



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Título:**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO CONDROPROTETOR DEL TRATAMIENTO  
CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y REÍNA EN CONDROCITOS  
HUMANOS”**

**Por:**

**Dr. Arturo Alejandro Wong Maldonado**

**Como requisito parcial para obtener el grado de Especialidad Médica en Ortopedia y  
Traumatología.**

**Monterrey Nuevo León, diciembre 2020**

**"EVALUACIÓN DEL EFECTO CONDROPROTETOR DEL TRATAMIENTO CON  
PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y REÍNA EN CONDROCITOS HUMANOS"**

Aprobación de la Tesis



---

**Dr. med. José Félix Vilchez Cavazos**  
**Director de Tesis**



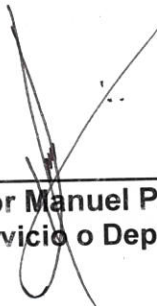
---

**Dr. med. Santiago de la Garza Castro**  
**Coordinador de Enseñanza**



---

**Dr. med. Carlos Alberto Acosta Olivo**  
**Coordinador de Investigación**



---

**Dr. med. Víctor Manuel Peña Martínez**  
**Jefe de Servicio o Departamento**



---

**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez**  
**Subdirector de Estudios de Posgrado**

---

El presente trabajo se llevó a cabo en el Servicio de Ortopedia y Traumatología y en el Laboratorio de Ingeniería Tisular del Banco de Hueso y Tejidos del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), bajo la Dirección del Dr. med.

José Félix Vílchez Cavazos.

## **DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer primeramente a Dios por permitirme vivir plenamente y feliz, por permitirme llegar hasta esta etapa de mi vida y lograr terminar mi residencia en ortopedia y traumatología.

A mi madre, por todo el apoyo incondicional que me diste desde el momento en el que nací has estado ahí para mí, anteponiendo tus necesidades a las mías y sirviendo como un apoyo y guía a lo largo de todas las etapas de mi vida, gracias mamá por estar siempre ahí, por ayudarme a sobrellevar todo y lograr superar mis obstáculos.

A mi padre, por siempre brindarme su apoyo incondicional y por ser siempre una voz de razón y experiencia a lo largo de mi camino. Gracias, papá por ser un ejemplo a seguir tanto como persona como médico. Y por inspirarme a estudiar esta carrera y superarme día a día, no solamente has sido un buen padre si no también un amigo.

A mis hermanos, Diana y David que han estado siempre conmigo apoyándome, viendo cómo me he desarrollado en mi vida personal y profesional, siempre han sido mis mejores amigos y me han ayudado a ser una mejor persona.

A mi novia Miriam Rodríguez, por estar ahí en todos los momentos difíciles, ayudarme y apoyarme en cada una de las etapas de mi vida tanto personal como profesional, te mereces que de lo mejor de mí para superarme y recompensarte por todo el apoyo que me has dado a lo largo de nuestra relación y este logro no solamente es mío, también es tuyo y sin tu apoyo no lo hubiera conseguido. Me

brindaste paz y tranquilidad cuando lo necesitaba y me permitiste desarrollarme en el ámbito profesional, así como en el personal y espiritual.

A todos mis maestros, en especial al Dr. Félix Vílchez, Dr. Víctor Peña, Dr. Carlos Acosta, Dr. Santiago De la Garza y al Dr. Mario Simental que, gracias a sus conocimientos, experiencia y enseñanzas, facilitaron mi enseñanza para lograr ser quien soy ahora. Estaré eternamente agradecido por las capacidades y habilidades que me ayudaron a forjar, espero que sirvan para mejorar el mundo en el que vivimos.

A todos mis pacientes, pues cada uno de ellos ha sido un libro de conocimiento y aprendizaje que no se puede medir, obteniendo por medio de ellos: experiencia, sabiduría, empatía y vocación.

Y finalmente quiero agradecer a mis compañeros de residencia Julio, Luis, Sergio, Manautou y Enrique ya que junto a ellos viví esta etapa de mi vida que este mes culmina. Preparándonos juntos para iniciar una vida nueva como traumatólogos y ortopedistas.

A todos ustedes: ¡Gracias, Totales!

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
ABREVIATURAS.....	12
CAPÍTULO I.....	14
1. RESUMEN.....	14
CAPÍTULO II.....	16
2. INTRODUCCIÓN.....	16
2.1 ANTECEDENTES.....	17
2.1.1 Osteoartrosis.....	17
2.1.1.1 Definición.....	17
2.1.1.2 Epidemiología.....	18
2.1.1.3 Factores de riesgo.....	20
2.1.1.3.1 Edad.....	21
2.1.1.3.2 Género.....	21
2.1.1.3.3 Obesidad.....	22
2.1.1.3.4 Genética.....	23
2.1.2 Fisiopatología de la Osteoartrosis.....	23
2.1.3 Diagnóstico de la Osteoartrosis.....	25
2.1.3.1 Síntomas.....	26
2.1.3.1.1 Dolor .....	26
2.1.3.1.2 Rigidez .....	27
2.1.3.1.3 Limitación del movimiento .....	27

2.1.3.2 Signos.....	28
2.1.4 Diagnóstico por imagen .....	28
2.1.4.1 Radiografías.....	28
2.1.4.2 Resonancia magnética.....	30
2.1.5 Tratamiento.....	31
2.1.5.1 Tratamiento no farmacológico.....	31
2.1.5.2 Tratamiento farmacológico.....	32
2.1.5.2.1 Paracetamol .....	32
2.1.5.2.2 AINES.....	32
2.1.5.2.3 Terapia intraarticular.....	34
2.1.5.2.3.1 Glucocorticoides.....	34
2.1.5.2.3.2 Viscosuplementación.....	35
2.1.5.2.4 FARMES.....	36
2.1.5.2.4.1 Diacereina .....	36
2.1.5.2.4.2 PRP .....	36
CAPÍTULO III.....	38
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	38
CAPÍTULO IV.....	39
4. HIPOTESIS .....	39
CAPÍTULO V.....	40
5. OBJETIVO .....	40
CAPÍTULO VI.....	41
6. MATERIAL Y METODOS.....	41
6.1. Pacientes y diseño del estudio .....	41

6.2. Obtención y cultivo de los condrocitos .....	42
6.3. Tratamientos .....	42
6.4. Proliferación celular.....	43
6.5 Ensayos de migración.....	44
6.7 Extracción del ARN total y análisis de expresión génica por PCR.....	44
6.8 Producción de óxido nítrico.....	46
6.8 Medición de TNF- $\alpha$ .....	46
CAPÍTULO VII.....	48
7. RESULTADOS .....	48
7.1 Características de los pacientes.....	48
7.2 Estandarización de condiciones.....	49
7.2.1 Solubilidad de la reina.....	49
7.2.2 Viabilidad de condrocitos.....	50
7.2.3 Concentración de reina.....	51
7.3 Método estadístico.....	53
7.4 Producción de óxido nítrico.....	53
7.5 Producción de TNF- $\alpha$ .....	54
7.6 Expresión génica de IL-1 $\beta$ e IL-6.....	55
7.7 Expresión génica de MMP13 y ADAMT S5.....	56
7.8 Ensayos de migración.....	57
CAPÍTULO VIII.....	60
8. DISCUSIÓN.....	60
CAPÍTULO IX.....	62



9. CONCLUSIÓN.....	62
CAPÍTULO X.....	63
10. ANEXOS.....	63
10.1. Carta de Aprobación por parte del Comité de Ética en Investigación.....	63
9.2. Carta de Consentimiento Informado.....	64
10. BIBLIOGRAFÍA.....	70
CAPITULO IX.....	79
11. AUTOBIOGRAFIA.....	79

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Factores de riesgo de la gonartrosis.....	20
Figura 2. Escala de Kellgren y Lawrence .....	30
Figura 3. Cromatograma de la cuantificación reina.....	50
Figura 4. Curva de Titulación de condrocitos .....	51
Figura 5. Curva dosis respuesta de la concentración de reina .....	52
Figura 6. Producción de Oxido Nitrico .....	54
Figura 7. Producción de Factor de necrosis tumoral alfa.....	55
Figura 8. Expresión génica de citocinas proinflamatorias.....	56
Figura 9. Expresión génica de enzimas que degradan matriz.....	56
Figura 10. Evaluación de la migración celular .....	57
Figura 12. Determinación del porcentaje de la herida.....	58
Figura 13. Grafica de los ensayos de migración.....	59

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Nombre y símbolo de los genes analizados por qPCR.....	45
Tabla 2. Base de datos .....	48
Tabla 3. Referencias de la concentración de Reina .....	52

## ABREVIATURAS

ADN	Acido Desoxirribonucleico
AH	Acido hialuronico
AINES	Antiinflamatorio no esteroideos
AR	Artritis reumatoide
ARN	Ácido Ribonucleico
CMCJ	Primera articulación carpometacarpiana
COX	Ciclooxigenasa
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
FARME	Fármaco modificador de la enfermedad
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
GDC	Grupo del desarrollo de guías
GWAS	Estudios de exploración asociada a todo el genoma
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$
KL	Kellgren-Lawrence
MRI	Resonancia magnética
OA	Osteoartrosis
ON	Óxido nítrico
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PGE2	Prostaglandina E2

PM	Peso molecular
PRP	Plasma rico en plaquetas
SBF	Suero bovino fetal
TGF $\beta$	Factor de crecimiento transformante- $\beta$
TNF- $\alpha$	Factor de Necrosis Tumoral - alfa
VEFG	Factor de crecimiento vascular endotelial

# CAPITULO I

## RESUMEN

Arturo Alejandro Wong Maldonado

Fecha de Graduación: Diciembre, 2020

Universidad Autónoma de Nuevo León

Servicio de Ortopedia y Traumatología, Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”

**Título de la Tesis:** Evaluación del efecto condroprotector del tratamiento con plasma rico en plaquetas y reina en condrocitos humanos.

**Número de páginas:** 79

**Área de Estudio:** Ciencias de la Salud.

**Introducción.** La osteoartrosis (OA) es una enfermedad crónico-degenerativa de origen multifactorial prevalente en el mundo que causa dolor, rigidez y limitación del movimiento, por lo cual se han propuesto diversos tratamientos alternativos **Objetivo.** Investigar y comparar el efecto antiinflamatorio de la terapia combinada de plasma rico en plaquetas y reina para el tratamiento de la OA de rodilla en un modelo *in vitro*. **Material y Métodos.** Se recuperó el tejido articular proveniente de los cóndilos femorales y cápsula sinovial de 20 pacientes de donde se obtuvieron condrocitos y posteriormente se generaron 5 grupos experimentales: control (medio basal), IL-1 $\beta$  (medio basal + IL-1 $\beta$ ), PRP (+ IL-1 $\beta$ ), Reina (+ IL-1 $\beta$ ) y Reina + PRP (IL-1 $\beta$ ). De cada grupo se obtuvieron muestras a las 0, 24 y 48 horas y se midió la producción de Óxido nítrico, Factor de necrosis tumoral y ensayos de migración y expresión génica. **Resultados.** Se determinó la solubilidad de la reina en 1.8mg/mL, el número de células en 50,000 condrocitos y una concentración de reina de 50 mg/L, la producción de óxido nítrico y factor de necrosis tumoral alfa no tuvieron una reducción

significativa con respecto al resto de los tratamientos ( $p < 0.05$ ) la producción génica mantuvo el mismo patrón en los resultados con una respuesta parcial en la terapia combinada y en los ensayos de migración ( $p < 0.05$ ). **Conclusiones.** El tratamiento de la osteoartrosis con la terapia combinada Plasma Rico en Plaquetas y reina puede ser una opción terapéutica que puede ayudar para contrarrestar el catabolismo producido por el estado inflamatorio en la OA de rodilla de una forma parcial.

---

Dr. med. José Félix Vílchez Cavazos

Director de Tesis

## **CAPITULO II**

### **2. INTRODUCCIÓN.**

La osteoartritis (OA) es una enfermedad crónico-degenerativa de origen multifactorial. (1)(2) Además de ser una causa importante de discapacidad y mala calidad de vida en la población adulta. (3) Se estima que en el 9.6% de los hombres y en 18% de las mujeres mayores de 60 años presentan síntomas de esta enfermedad. (4) Esta enfermedad se caracteriza por una pérdida del cartílago articular, inflamación de la sinovial y cambios degenerativos en el hueso periarticular como lo es la formación de osteofitos y esclerosis subcondral. (5) Sus manifestaciones principales son la rigidez, limitación de movimiento, edema y dolor debido a la degeneración del cartílago articular. El tratamiento usualmente incluye la administración de analgésicos no esteroideos, corticoesteroides y analgésicos como el tramadol/paracetamol. (6)(7) Estas terapias tienen diversos efectos adversos y poco beneficio al paciente, por lo cual en los últimos años se han utilizado nuevas terapias como el uso de diacereína. La diacereína es considerada un fármaco modificador de la enfermedad (FARME), (8) esta pertenece a la familia de las antraquinonas y se ha observado que evita la progresión de la enfermedad utilizando su metabolito activo reína que actúa inhibiendo la acción de la interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), la cual es una citocina proinflamatoria involucrada en la destrucción de la matriz cartilaginosa. (9) Además, inhibe la formación de metaloproteinasas las cuales degradan la matriz cartilaginosa. Otra opción de



tratamiento es el uso de Plasma rico en plaquetas (PRP) que es una terapia autóloga que está compuesta de factores de crecimiento como el factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF  $\beta$ ), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento vascular endotelial (VEFG) por lo cual se ha utilizado en campo de la traumatología como reparador tisular en la osteoartrosis. Por lo cual nosotros proponemos el uso de la reína más PRP in vitro para evaluar la efectividad en la limitación y progresión de esta enfermedad. (10)

## **2.1. ANTECEDENTES**

### **2.1.1. Osteoartrosis**

#### 2.1.1.1. Definición

La osteoartrosis es una patología crónico degenerativa la cual fue definida por el subcomité de osteoartritis del comité de criterios diagnósticos y terapéuticos del colegio americano de reumatología como un grupo heterogéneo de condiciones que llevan a síntomas y signos articulares los cuales están asociados con un defecto en la integridad del cartílago articular en relación a cambios en el hueso subcondral y márgenes articulares que tienen como resultado una falla mecánica, estructural y funcional de las articulaciones. (11)

Otra definición aceptada es que es una condición patológica caracterizada por áreas focales de pérdida del cartílago articular dentro de las articulaciones sinoviales

asociada a formación de osteofitos y esclerosis del hueso subcondral además de engrosamiento de la capsula articular (12) que tiene como consecuencia una falla en la articulación causando dolor, rigidez, limitación funcional y por lo tanto una disminución en la calidad de vida. (13)

#### 2.1.1.2. Epidemiología

La osteoartrosis es una de las enfermedades más prevalentes en el mundo la cual causa un fuerte impacto en la salud de la población y en los costos de su manejo. (14) (15) (16)

Es la causa más común de enfermedad articular degenerativa afectando al 25% de la población mundial mayor a 18 años. (17)

De hecho, se estima que el riesgo de presentar osteoartrosis a lo largo de la vida es de 40% en hombres y 47% en mujeres, aumentando éstas cifras en caso de presentar obesidad. (18)

La prevalencia de esta enfermedad depende en gran medida de la región geográfica debido a las diferencias en la genética, ambiente, demografía y estilo de vida(19)

En lo que respecta a Estados Unidos aproximadamente 27 millones de adultos arriba de los 25 años de edad tienen el diagnóstico de osteoartrosis en cualquier articulación, cifra que superó los 21 millones estimados en 1995. (15)

De hecho, en México se ha reconocido como una de las principales causas de morbilidad en personas mayores de 60 años. La Encuesta Nacional de Salud II la

ubicó como la segunda causa de morbilidad con 14% en personas mayores de 60 años. (20)

En la actualidad se ha estimado que la prevalencia de osteoartritis en México es de 10.5% (IC95% 10.1 a 10.9), es más frecuente en las mujeres (11.7%) que en los hombres (8.7%), aunque varía enormemente en las diferentes regiones del país; en Chihuahua la prevalencia es de 20.5%, en Nuevo León de 16.3%, en la Ciudad de México de 12.8%, en Yucatán de 6.7% y en Sinaloa de 2.5% ( $p < 0.01$ ). (21)

Esta alta prevalencia en México y en el mundo ha considerado a la osteoartritis como un problema de salud pública teniendo un impacto importante en la situación económica de los países ya que el costo del tratamiento representa 0,25 y el 0,50% del producto interno bruto de cualquier país del mundo. (22)

Solo en Estados Unidos la estimación anual promedio de costos directos en la atención por paciente con osteoartrosis de rodilla es de \$1,442 a \$21,335 dólares y costos indirectos de \$238 a \$29,93 dólares. (23)

Y conforme aumenta la esperanza de vida se vuelve más prevalente causando una pérdida aproximada de 2.3 años de vida saludable (24) esto repercute en los costos de atención primaria ya que en México ocupa uno de los primeros 4 lugares en demanda de atención en pacientes mayores a 60 años y representa el mismo nivel en cuanto a costos. (20)

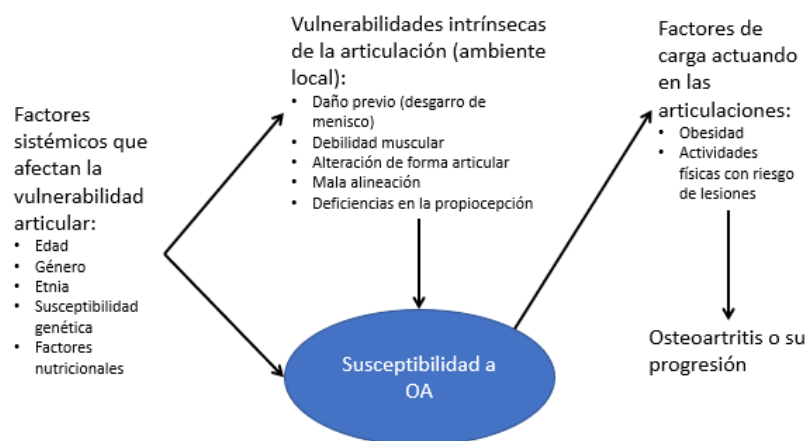
La distribución anatómica de la osteoartrosis afecta principalmente a la región inferior: siendo la rodilla el sitio más común afectando a 12.4 millones (33.6%) de adultos mayores de 65 años. (25) Y presenta un riesgo estimado de 40% en

hombres y 47% en mujeres incrementando el riesgo en caso de presentar obesidad (26) (27) de hecho los últimos 20 años ha tenido un incremento notable respecto al estudio Framingham. (27)

La Organización Mundial de la Salud estima que para el año 2050, 130 millones de personas padecerán osteoartritis en todo el mundo y 40 millones quedarán gravemente discapacitados, destacando la significativa carga social que presentará esta grave enfermedad.(28)

### 2.1.1.3 Factores de riesgo

En la literatura se han descrito ciertos factores de riesgo para el desarrollo de la osteoartritis los cuales de forma directa e indirecta contribuyen a desarrollar esta patología, entre los más importantes se encuentran:



**Figura 1. Factores de riesgo de la gonartrosis (29)**

#### 2.1.1.3.1 Edad

La edad es uno de los factores determinantes para el desarrollo de la osteoartrosis (15) (30) (31) debido a que la articulación se vuelve más vulnerable eso aunado a los cambios fisiológicos que son parte del proceso de envejecimiento como es la perdida de la capacidad de los condrocitos a responder a los estímulos de los factores de crecimientos y citocinas por lo que una carga dinámica que de otro modo conduciría a una síntesis de matriz reparadora en el cartílago no lo hace en las articulaciones más longevas. Además de otros factores como la perdida de la masa muscular que trae como consecuencia el mayor tiempo de respuesta para anticipar la carga transarticular entrante son factores asociados con la edad. (29) (31)

#### 2.1.1.3.2 Género

Es bien sabido que existe una diferencia respecto al género masculino y femenino para presentar osteoartrosis (32) todo va en base a las diferencias genéticas, anatómicas y hormonales (33) de hecho se han llegado a formular hipótesis sobre el inicio de la menopausia y su correlación con la osteoartrosis, como consecuencia la disminución de estrógenos podría jugar un papel importante en el desarrollo de osteoartrosis. (31)

Por lo tanto, existe evidencia que las mujeres presentan un mayor riesgo de desarrollar osteoartrosis particularmente después de la edad menopaúsica, siendo más fuertes estos cambios arriba de los 55 años. (34) (35)

#### 2.1.1.3.3 Obesidad

La obesidad se ha convertido en un problema mundial que conduce a un exceso de morbilidad y mortalidad. (31)

Hay considerable evidencia que indica que la obesidad representa uno de los factores de riesgo más importantes de OA en articulaciones periféricas como la rodilla y la cadera. (36)

De hecho, la obesidad es un factor de riesgo clave para la osteoartritis de rodilla, aumentando el riesgo tres veces, y la evidencia sugiere que la obesidad acelera la progresión de la osteoartritis de rodilla. (18) (37) (38)

Además del aumento de la carga articular que genera el sobrepeso y su consecuente desgaste, existe otra forma en la que la obesidad contribuye al riesgo de osteoartrosis y esto es de forma directa en la que el tejido adiposo promueve la producción de mediadores inflamatorios responsables del daño del cartílago. De hecho, el tejido adiposo, a través de la producción de adipocinas, moléculas con actividad similar a las citocinas, desempeña un papel en la patogenia de la OA independientemente de la sobrecarga a través de la inducción de inflamación y aumento del estrés oxidativo. (39) (40)

Dado que la obesidad está aumentando en prevalencia y también es un factor de riesgo para el desarrollo de OA, es probable que más personas se vean afectadas por la OA de rodilla en el futuro. (31)

#### 2.1.1.3.4 Genética

Aproximadamente el 30% -65% del riesgo de OA está determinado genéticamente.

(31) (18) (30)

Estudio de gemelos han revelado que la genética, independientemente de los factores ambientales, produce un efecto del 39% al 65% para la artrosis de rodilla y mano y hasta un 60% para la artrosis de cadera. (19) (41)

Una revisión reciente de Warner et al. (42) destacó los principales hallazgos de los estudios de asociación genética sobre la OA hasta la fecha e informaron que los estudios de exploración asociada a todo el genoma (GWAS) han identificado hasta ahora 21 loci de susceptibilidad independientes para OA.

#### **2.1.2 Fisiopatología de la osteoartrosis**

La OA se clasifica en dos grupos según su etiología: primaria (idiopática o no traumática) y secundaria (generalmente debido a un traumatismo o desalineación mecánica). Además, la gravedad la enfermedad también se puede clasificar de acuerdo con los hallazgos radiográficos de Kellgren-Lawrence, (KL) sistema descrito en 1957. (43)

Respecto a la osteoartrosis primaria antes se creía que era exclusivamente una enfermedad degenerativa del cartílago, sin embargo, la última evidencia ha demostrado que la OA es una entidad multifactorial, que involucran múltiples factores causales como traumatismos, fuerzas mecánicas, inflamación, reacciones bioquímicas y alteraciones metabólicas. (44)

Respecto al cartílago articular los condrocitos normalmente responden a estimulación mecánica y a través los factores mencionados previamente se pueden producir mediadores inflamatorios, similar a una respuesta a las lesiones creando un ambiente proinflamatorio que participará en la destrucción articular. Además, las células del hueso subcondral responden de manera similar y pueden participar en la degradación de la capa profunda del cartílago. Las proteínas de la matriz del cartílago están fragmentadas, estos fragmentos retroalimentan y estimulan una mayor destrucción de la matriz. (45)

Por otro lado, los cambios relacionados con el envejecimiento en los condrocitos, es decir, acumulación de productos finales de glicación avanzada hacen que el cartílago se vuelva más frágil y aumenta la producción de citocinas y quimiocinas por condrocitos envejecidos. Por tanto, el avance de la edad también se presenta como un riesgo importante en el desarrollo de la OA. (44)

Otro factor importante es la sinovitis (infiltración de células inflamatorias en la membrana sinovial) es un hallazgo común de OA y puede estar presente en las primeras etapas de la enfermedad, pero es más prevalente hacia las etapas más avanzadas y se puede relacionar con su severidad. (46) (47)

También se ha encontrado que el líquido sinovial contiene múltiples mediadores inflamatorios que incluyen proteínas plasmáticas (Proteína C reactiva, propuesta como marcador para el desarrollo y progresión de OA), prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>), leucotrienos. (LKB<sub>4</sub>), citocinas (TNF, IL1 $\beta$ , IL6, IL15, IL17, IL18, IL21), factores de crecimiento (TGF $\beta$ , FGF, VEGF, NGF), óxido nítrico y componentes complementarios. A nivel local, todos estos componentes puede inducir



metaloproteinasas de matriz y otras enzimas hidrolíticas (incluidas la ciclooxigenasa 2 y la prostaglandina E) resultando en la degradación del cartílago y destrucción de colágeno.(45) (48) (49)

Actualmente, se ha hecho evidente que los mediadores inflamatorios contribuyen significativamente al desarrollo y progresión de cambios estructurales en la articulación debido a que la inducción de mediadores proinflamatorios en cartílago, membrana sinovial y hueso subcondral y sus vías de señalización están interconectadas y superpuestas. Por lo tanto, sigue siendo controvertido si los mediadores inflamatorios son reguladores primarios o secundarios en el daño del cartílago y el defecto de reparación en la osteoartritis. (44)

### **2.1.3 Diagnóstico de la osteoartritis**

A lo largo del tiempo el diagnóstico de la osteoartritis se ha realizado de forma clínica, esto en base a signos y síntomas que presentan los pacientes con este padecimiento haciendo a un lado los estudios de imagen y laboratorio. (50) (51) (52) (53)

En CG59 (2008), el GDG consideró los siguientes criterios clínicos para representar el diagnóstico de un médico de frente a un paciente con osteoartritis en articulaciones periféricas:

1.- dolor articular persistente que empeora con el uso.

3.- Edad mayor a 45 años.

2.- Rigidez matutina que no dura más de media hora. (54)

#### 2.1.3.1 Síntomas

Los síntomas característicos son el dolor, la rigidez y la restricción del movimiento.

Estos síntomas típicamente pueden comenzar en solo una articulación o en varias articulaciones en una persona de mediana edad o mayor. (55)

##### 2.1.3.1.1 Dolor

Respecto al dolor por lo general, afecta a una o pocas articulaciones a la vez.

Presenta un inicio insidioso, de progresión lenta durante meses o años con una intensidad variable a lo largo del día y las semanas, puede ser intermitente y recidivante, incrementado por el uso e impacto articular y se alivia con el reposo. Importante a destacar que el dolor nocturno puede ocurrir en OA severa. (55)

Tiene 3 etapas: en la primera etapa (temprano) el dolor es agudo predecible, generalmente provocado por un insulto mecánico que eventualmente limita las actividades de alto impacto y puede que solo haya un efecto mínimo en la función.

En la segunda etapa (leve-moderado) el dolor se vuelve una característica más regular y comienza a afectar las actividades diarias y puede haber episodios impredecibles de rigidez. Y por último la tercera etapa (avanzado) donde es un dolor

constante y sordo, puntuado por breves episodios de dolor intenso e impredecible que resulta en un dolor funcional severo. (55)

#### 2.1.3.1.2 Rigidez

La rigidez puede considerarse una dificultad o malestar durante el movimiento causado por una alteración en la flexibilidad percibida de la articulación, suele ser más evidente durante las mañanas, pero también puede ocurrir más tarde en el día, principalmente después de períodos de inactividad. La rigidez matutina está presente tanto en las artritis inflamatorias (p. ej., artritis reumatoide [AR]) y en la OA. Puede ser considerado un síntoma inflamatorio cuando se prolonga y está presente durante al menos 30 minutos antes de percibir mejoría. La rigidez matutina en la OA suele ser de corta duración (generalmente unos minutos, pero en general <30 minutos). En pacientes con OA, tanto matutinos como relacionados con la inactividad la rigidez mejora y se resuelve rápidamente con el uso de las articulaciones, mientras que el dolor articular empeora posteriormente con el uso continuo. (55)

#### 2.1.3.1.3 Limitación del movimiento

La restricción del movimiento y el deterioro funcional resultante dependen del sitio y gravedad de la OA. Por ejemplo, la primera articulación carpometacarpiana (CMCJ) la OA puede causar dificultad para el agarre, mientras que la OA en rodilla o en cadera puede afectar la capacidad para levantarse una silla y caminar.

Realmente La restricción del movimiento depende de las actividades diarias que realice el paciente y los requerimientos ocupacionales y/o recreativos. (55)

#### 2.1.3.1.2 Signos

Los signos incluyen crepitación, deformidad y derrame articular. La crepitación es una sensación o sonido de crujido causado por la fricción entre el cartílago articular dañado y el hueso. Puede ser más evidente al movimiento activo que en el pasivo durante el examen físico. La deformidad e inestabilidad son signos marcadores de daño al cartílago articular. (55)

### **2.1.4 Diagnóstico por imagen**

#### 2.1.4.1 Radiografías

Aunque el dolor articular es más común que la osteoartritis radiográfica, gran parte de la osteoartritis radiográfica se produce en ausencia de síntomas. (54)

Los síntomas y los cambios radiográficos no siempre se superponen, la osteoartritis radiográfica es aún más común en personas con antecedentes más prolongados y síntomas más persistentes. Existe una asociación constante en la rodilla, por ejemplo, entre la gravedad del dolor, la rigidez y la función física y la presencia de osteoartritis radiográfica. (56) (57) (58)

Tradicionalmente, los cambios estructurales de la OA han sido evaluados con radiografías. La radiografía se utiliza en la práctica clínica para establecer el

diagnóstico de OA y para monitorear la progresión de la enfermedad. Las radiografías muestran características óseas, incluyendo osteofitos marginales, esclerosis y quistes subcondrales que están asociados con OA y proporcionan una estimación indirecta del grosor del cartílago y la integridad del menisco al permitir la evaluación de espacio articular. La evaluación radiográfica de la OA se basa principalmente en la evaluación de osteofitos y el estrechamiento del espacio articular. los osteofitos se desarrollan en una etapa previa al estrechamiento del espacio articular, y son el criterio radiográfico más ampliamente utilizado para definir la presencia de OA, mientras que la evaluación de la gravedad de la OA se basa principalmente sobre el estrechamiento del espacio articular y anomalías óseas subcondrales concomitantes. (59) (11) (43)

La gravedad de la OA radiográfica puede ser estimada usando sistemas de puntuación. Existen varias clasificaciones que han sido desarrolladas y que incorporan una serie de características como lo es el esquema de clasificación Kellgren y Lawrence que es el sistema más utilizado y actualmente es el estándar aceptado para el diagnóstico de osteoartrosis en radiografías. (43) (60)



**Figura 2. Escala Kellgren & Lawrence:**

- A.- Incipiente formación de osteofito en el cóndilo femoral medial.
- B.- Osteofito femoral, con leve disminución del espacio femorotibial.
- C.- Osteofito femoral con leve disminución del espacio femorotibial.
- D.- Osteofitos con pérdida del espacio y esclerosis asociada.

#### 2.1.4.2 Resonancia magnética

Durante las últimas 2 décadas, la resonancia magnética (MRI) se ha establecido como la modalidad de imagen más importante en la evaluación de la patología articular en la clínica y entorno a la investigación. (61)

Esta permite evaluar la articulación como un órgano completo y proporciona una imagen mucho más detallada de los cambios asociados con la osteoartritis (OA) de lo que es posible con otras técnicas. Estos cambios articulares incluyen: la integridad del cartílago articular, el hueso subcondral, anomalías metafisarias, quistes subcondrales, osteofitos centrales y/o marginales, integridad meniscal, integridad del ligamento cruzado y ligamentos colaterales medial y lateral, sinovitis, derrame articular, cuerpos libres intraarticulares, quistes subcondrales y bursitis. (62) (61)

Por lo cual hoy en día, la resonancia magnética se ha vuelto imprescindible para evaluar la incidencia y progresión de la enfermedad, y se han desarrollado múltiples escalas para graduar la severidad de esta enfermedad. (63)

### **2.1.5 Tratamiento**

Las metas primarias del tratamiento de la OA son el alivio del dolor, la mejoría de la función y disminución de la velocidad de progresión del daño articular por lo cual se han desarrollado múltiples modalidades de tratamiento tanto farmacológicas como no farmacológicas para manejo de esta enfermedad y debido al poco efecto que tienen estas opciones terapéuticas de forma aislada se han tenido que combinar para tener un mejor control de la osteoartritis. (64) (65)

#### 2.1.5.1 Tratamiento no farmacológico

Las intervenciones no farmacológicas son la primera línea de tratamiento y deben de ser considerada antes de pensar en el tratamiento farmacológico y quirúrgico. (64)

Estas intervenciones son: adaptaciones del estilo de vida, control del peso, dieta, ejercicio, fisioterapia, uso de ortesis, educación y uso de dispositivos de asistencia cuando lo sea necesario. (64) (66)

El ejercicio tiene un efecto similar a los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) respecto al dolor y la función. Por lo general, está indicada una serie de ejercicios

aeróbicos y de fortalecimiento para abordar todo el espectro de discapacidad asociado con la OA, pero la prescripción óptima debe individualizarse. (7)

La pérdida de al menos el 10 por ciento del peso corporal mediante una combinación de dieta y ejercicios se ha asociado con una reducción del 50 por ciento en las puntuaciones de dolor en pacientes con sobrepeso / obesidad con OA de rodilla después de 18 meses. (67) También se puede recomendar la pérdida de peso para pacientes con OA de cadera, aunque no hay ensayos aleatorizados que evalúen su impacto en los síntomas de OA de cadera (68) y puede ser beneficioso para pacientes con OA en las manos, en vista de su mayor riesgo en pacientes con mayor índice de masa corporal. (69)

#### 2.1.5.2 Tratamiento farmacológico

##### 2.1.5.2.1 Paracetamol

El paracetamol es el analgésico oral de primera elección, se recomienda como terapia inicial para el manejo del dolor por OA debido a su efectividad, a través de la regulación a la baja de la ciclooxygenasa 3 y su acción inhibitoria sobre los mecanismos del óxido nítrico, junto con bajo costo y poca tasa de complicaciones. (70) (71)

##### 2.1.5.2.2 Antiinflamatorios no esteroideos

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son los fármacos más utilizados en el tratamiento de la OA. Sin embargo, se recomienda administrar los AINE a pacientes que no obtienen un alivio adecuado del dolor con paracetamol.



(71)(72) La mayoría de los AINE son no selectivos, es decir son inhibidores de las ciclooxigenasas COX-1 y COX-2. La COX-1 se expresa constitutivamente en la mayoría de los tejidos, mientras que la COX-2 es una enzima inducida en la regulación de la respuesta inflamatoria. Tanto las enzimas COX-1 como COX-2 utilizan ácido araquidónico para generar el mismo producto: prostaglandinas, moléculas mensajeras en el proceso de la inflamación. (73)

Existen varios grupos de AINEs, los derivados del ácido propiónico como el ibuprofeno, naproxeno y ketoprofeno, los derivados del ácido acético como la indometacina y el diclofenaco, los derivados del ácido enólico como el piroxicam y meloxicam, los inhibidores selectivos de la COX-2 como el celecoxib y otros. (73)

No son medicamentos inocuos ya que tienen varios efectos secundarios derivados de su mecanismo de acción, por ejemplo, la inhibición de la COX-1 en células epiteliales gástricas conduce a una baja producción de prostaglandinas citoprotectoras, causando lesión a la mucosa gástrica e intestinal, incluyendo sangrado y ulceración. Los AINE no selectivos también exponen a los pacientes a efectos secundarios graves en los sistemas renal y cardiovascular. En consecuencia, se han desarrollado inhibidores selectivos de la COX-2, que se pueden prescribir para tratamientos a más largo plazo, sin embargo, los inhibidores de la COX-2 conllevan un mayor riesgo cardiovascular al crear un estado protrombótico, y están contraindicados en pacientes con isquemia cardíaca y enfermedad cerebrovascular. (73)

Por este motivo no se recomienda la combinación de dos AINES ya que no aumenta los efectos analgésicos, pero si los efectos adversos. (73) (74)

### 2.1.5.2.3 Terapia intraarticular

#### 2.1.5.2.3.1 Glucocorticoides

La aplicación intraarticular de corticosteroides fue descrita en 1951, todavía se consideran un tratamiento costo-efectivo entre los tratamientos de la OA no invasivos. La justificación de su uso es su efecto antiinflamatorio a través de una compleja multiplicidad de acciones, y la concentración prolongada del corticosteroide en el líquido sinovial confiere el máximo efecto antiinflamatorio localmente minimizando al mismo tiempo el riesgo de efectos sistémico. En efecto, la sinovitis es común incluso en la OA temprana y está relacionada con síntomas y progresión estructural de la enfermedad: las citocinas proinflamatorias, como IL-1 y TNF- $\alpha$ , facilitan el daño del cartílago mediante la activación de metaloproteinasas y la reducción del líquido sinovial. Esto explica los beneficios a corto plazo de los corticosteroides, sin embargo, los beneficios a largo plazo no se han confirmado y el uso repetido es controvertido, ya que pueden facilitar la atrofia tisular, destrucción articular y degeneración del cartílago, que es de gran importancia, especialmente en los primeros años de OA. Por lo tanto, aunque su uso puede ser más extenso en OA severa en personas de edad avanzada, solo se deben considerar los corticosteroides para la OA temprana como segunda línea de tratamiento cuando fallan otras medidas conservadoras o farmacológicas. (70) (75)

#### 2.1.5.2.3.2 Viscosuplementación

La viscosuplementación implica el uso de inyecciones intraarticulares de ácido hialurónico, generalmente para el tratamiento de articulaciones osteoartrosicas. El ácido hialurónico es un glucosaminoglicano que proporciona lubricación articular y absorbe los impactos que se generan en la rodilla, además a nivel celular actúa como estructura de los proteoglucanos en la matriz extracelular (condroitina y glucosamina). (70)

En rodillas adultas normales, la concentración de HA varía entre 2.5 a 4.0 mg/ml, pero en la OA esta concentración disminuye en un 33-50. Actualmente, hay muchos viscosuplementos que difieren en peso molecular, método de preparación, instrucciones de dosificación, características biológicas y posible resultado clínico, pero los ensayos clínicos no indican una clara ventaja de un producto sobre otro. (76)

los viscosuplementos se categorizan dependiendo del rango del peso molecular (PM) que va de 500 a 6.000 kDa. Lo usual es que se dividan en alto y bajo (PM). Se ha propuesto que HA de PM < 500 kDa presentan una unión débil en los receptores de superficie de las células, mientras que PM 500-4,000 kDa permite una unión óptima. Por el contrario, los ensayos clínicos no confirman que las diferencias en el PM tengan algún efecto en la eficacia clínica, (77) (78) y no se ha demostrado que un mayor PM esté relacionado a una mayor eficacia. (79) (80)

#### 2.1.5.2.4 Fármacos modificadores de la enfermedad

##### 2.1.5.2.4.1 Diacereina

La Diacereina es un fármaco modificador de la enfermedad derivado de las antraquinonas, el cual ha demostrado gran eficacia y seguridad en el tratamiento de la osteoartritis.(81) su metabolito activo es la reina, la cual ejerce su principal acción inhibiendo la síntesis de interleucina 1B (IL-1B)(82) (83) además, interviene inhibiendo la producción de óxido nítrico y metaloproteinasas creando un ambiente antiinflamatorio, proanabólico y anticatabólico en el cartílago articular y membrana sinovial(84). Esto lleva a una homeostasis en el cartílago y hueso subcondral, previniendo la destrucción articular lo que se traduce en una disminución del dolor y mejoría de la función(85) de hecho ha probado ser efectiva y bien tolerada en el tratamiento a largo plazo en la osteoartritis(86) a pesar de su eficacia y seguridad no está exenta de efectos secundarios, los más comunes son gastrointestinales principalmente diarrea. (87)

##### 2.1.5.2.4.2 Plasma rico en plaquetas

El plasma rico en plaquetas autólogo es una terapia biológica que es el resultado del centrifugado de la fracción líquida de la sangre periférica en la cual se obtiene un alto concentrado plaquetario, el método es simple, de bajo costo y mínimamente invasivo(88), este ha sido utilizado durante más de 30 años para diversos propósitos, de hecho sus primeros reportes datan desde 1980, siendo actualmente de interés en la medicina regenerativa. (89) Su mecanismo de acción consiste en

la liberación de múltiples factores de crecimiento altas concentraciones entre los cuales destacan, factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP) factor de crecimiento similar a la insulina, Factor de crecimiento Vascular endotelial (FCVE), factor de crecimiento transformante beta, factor de crecimiento de fibroblastos, entre otros. Todos estos factores promueven la protección y producción de condrocitos, específicamente su proliferación y diferenciación, además de disminuir el proceso de apoptosis y los efectos catabólicos de las citocinas proinflamatorias. (90) Todo lo anterior tiene como resultado mejorar la biomecánica de las articulaciones disminuyendo el dolor, mejorando la función especialmente en pacientes con osteoartrosis de rodilla en grados leves a moderados. (91) Dentro de los efectos secundarios reportados en la literatura solo destaca el dolor en el sitio de punción. (92)

## **CAPITULO III**

### **3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Qué efecto tendrá la combinación de plasma rico en plaquetas y reína en condrocitos humanos osteoartrósicos cultivados in vitro en un ambiente inflamatorio?

## **CAPITULO IV**

### **4. HIPOTESIS**

La combinación de plasma rico en plaquetas y reína en condrocitos humanos cultivados dentro de un ambiente inflamatorio favorece la respuesta condroprotectora y anti-inflamatoria.

## **CAPITULO V**

### **5. OBJETIVO**

Investigar la respuesta condroprotectora y anti-inflamatoria de condrocitos humanos cultivados in vitro en presencia de plasma rico en plaquetas y reína.



## **CAPITULO VI**

### **6. MATERIAL Y METODOS**

#### **6.1 Pacientes y diseño del estudio.**

El presente trabajo es un estudio experimental, prospectivo, *in vitro*, que se llevó cabo en el Servicio de Ortopedia y Traumatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL. Se obtuvieron muestras de cartílago articular a partir del material biológico de desecho que se generó en las cirugías de artroplastia total de rodilla. Para el estudio se requirió la obtención y cultivo de los tejidos de 9 pacientes, cuyos criterios de inclusión fueron:

1. Mayores de 18 años
2. Género indistinto
3. Diagnóstico de OA de rodilla avanzada, que requirieron prótesis total de rodilla
4. Firma de consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

1. Pacientes que presentaron algún tipo de infección en la articulación
2. Pacientes de los que la muestra de tejidos fue insuficiente.

## **6.2 Obtención y cultivo de los condrocitos**

Se emplearon cultivos primarios de condrocitos humanos procedentes de muestras de cartílago articular de características osteocondrales. La obtención y el cultivo de los condrocitos se llevó a cabo mediante varios ciclos de digestiones enzimáticas. Se maceró el cartílago en pequeños trozos y se sometió a digestión enzimática, empleando tripsina/EDTA al 0.25% (GIBCO®-BRL Life Technologies, Grand Island, NY, USA). Posteriormente, la digestión continuó con al menos 2 ciclos de collagenasa tipo II 2 mg/mL (GIBCO®-BRL Life Technologies, Grand Island, NY, USA) a 37°C en agitación constante. Las células contenidas en el sobrenadante se sedimentaron por centrifugación a 1800 rpm por 5 minutos. Los condrocitos fueron suspendidos en medio de cultivo opti-MEM suplementado con 10% de suero bovino fetal (SBF) y gentamicina (0.05 mg/mL) y se cultivaron inicialmente en botellas de cultivo de 75 cm<sup>2</sup> a 37°C en un ambiente al 5% de CO<sub>2</sub> y una humedad relativa del 100%. No se utilizaron células con más de dos pasajes de cultivo.

## **6.3 Tratamientos**

Para el cultivo celular, se emplearon placas de 12 pozos (Costar® Corning Incorporated, Corning, NY, USA) a una densidad de  $2 \times 10^5$  células por pozo. El medio de cultivo basal que se empleó fue DMEM/F12 (GIBCO®-BRL Life Technologies, Grand Island, NY, USA) suplementado con 10% de SBF (GIBCO®-BRL Life Technologies, Grand Island, NY, USA) y 50 µg/mL de Gentamicina (Laboratorios Química SON'S, Cholula, Puebla, MEX); todo en un ambiente al 5%

de CO<sub>2</sub> y una humedad relativa del 100%. Los condrocitos fueron tratados con IL-1 $\beta$  recombinante humana (10 ng/mL) durante 24 h. Posterior a ello, se establecieron 4 grupos de tratamiento: un grupo control tratado únicamente con medio basal, un grupo de tratamiento con medio de cultivo basal suplementado con 10% de PRP, un grupo de tratamiento con medio de cultivo basal suplementado con reina (50mg/L) y un último grupo de tratamiento con medio de cultivo basal suplementado con 10% de PRP y reina (50 mg/L). De cada grupo se obtuvieron muestras a las 0, 24 y 48 h de cultivo para realizar extracción de ARN total y además se almacenó el medio de cultivo sobrenadante a -80°C para su posterior análisis.

#### **6.4 Proliferación celular**

La proliferación de los condrocitos cultivados bajo las distintas condiciones anteriormente señaladas fu evaluada por medio de un ensayo colorimétrico a través de la reducción de la sal de tetrazolio MTT (bromuro de 3-(4, 5-dimetiltiazolil-2)-2, 5-difeniltetrazolio). La reducción del MTT (color amarillo) se llevó a cabo en células metabólicamente activas a través de enzimas deshidrogenasas, lo que dio como resultado la producción intracelular de formazán (color púrpura) el cual puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Los condrocitos fueron cultivados en placas de 96 pozos durante 24 h. Posteriormente, las células se incubaron con el reactivo de MTT de 2-4 h hasta la formación de un precipitado púrpura visible. Luego se añadió el reactivo de detergente y se incubó de 2-4 h en la oscuridad. Por último, se midió la absorbancia en cada pozo a una longitud de onda de 570 nm.

## **6.5 Ensayos de migración**

Se Realizaron ensayos de migración realizando una herida de forma mecánica sobre la superficie del cultivo, posteriormente se observó al microscopio la repoblación de la misma a las 24, 48 y 72 horas. Se transformaron las imágenes a escala de grises y se estimó el porcentaje del área desprovista de condrocitos mediante el programa ImageJ.

## **6.7 Extracción de ARN total y análisis de expresión génica por PCR en tiempo real**

Se aisló el ARN total de los condrocitos cultivados bajo las distintas condiciones de cultivo y en los tiempos indicados anteriormente mediante el estuche comercial RNeasy Mini Kit (QIAGEN®) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se evaluó la integridad de las muestras obtenidas de ARN por cuantificación espectrofotométrica en el equipo NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, DE, USA).

A partir de cada muestra de ARN total obtenida, se realizó la síntesis de ADN complementario (ADNc) por medio de una reacción de retrotranscripción con el estuche comercial GoTaq Probe 2-Step RT-qPCR System (Promega®). El ADNc se almacenó en microtubos a -20°C hasta su análisis. A partir del ADNc sintetizado se evaluó la expresión de distintos genes relacionados con la respuesta inflamatoria de los condrocitos dentro del cartílago. Esto se evaluó a través del uso de sondas TaqMan (Applied Biosystems) específicas para cada gen. Las corridas de los

ensayos de expresión se realizaron en el equipo 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Se evaluó la expresión de los genes incluidos de cada ensayo (9 ensayos) y de cada grupo de experimentación (4 grupos) por triplicado. La lista de los genes evaluados se muestra a continuación:

Nombre del gen	Símbolo	Código <sup>1</sup>
Metaloproteasa de matriz 13	MMP-13	Hs00233992_m1
Metaloproteasa con ADAMTS-trombospondina 1 motivo 5	5	Hs00199841_m1
Interleucina-1 beta	IL-1 $\beta$	Hs01555410_m1
Beta-2-microglobulina	B2M	Hs99999907_m1

<sup>1</sup>Applied Biosystems

**Tabla 1. Nombre y símbolo de cada uno de los genes analizados por qPCR y el código correspondiente a cada una de las sondas TaqMan empleadas.**

Una vez obtenida y comprobada la eficiencia de amplificación para cada gen, se realizaron las corridas correspondientes a cada experimento y el análisis de los datos obtenidos se llevaron a cabo mediante el Método Comparativo de CT o Método de  $\Delta\Delta CT$  para ensayos de expresión relativa, utilizando como genes endógenos para normalizar a GAPDH y B2M.

## **6.8 Producción de óxido nítrico**

El óxido nítrico (ON) se genera como parte de la respuesta inmune, por lo que su producción lo que lo hace un buen indicador de inflamación. La producción de ON se determinó en los sobrenadantes de los cultivos mediante el uso del reactivo de Griess (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), que convierte el nitrato disponible en nitrito a través de la nitrito reductasa. Se mezcló una alícuota de 100  $\mu$ L de cada muestra con 100  $\mu$ L del reactivo de Griess y fueron incubados por 5 min. Se determinó la absorbancia a 540 nm en placas de 96 pozos en el lector de placas multi-modal Cytation3 HT (BioTek® Instruments Inc., Winooski, VT, USA). Se utilizó el nitrato de sodio para generar una curva estándar con la cual se determinaron las concentraciones de las muestras a evaluar. Se evaluó la producción de NO en cada ensayo de co-cultivo (12 ensayos) y en cada grupo de experimentación (4 grupos) por triplicado. Este procedimiento se llevó a cabo en el Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular. Una vez concluidos los ensayos de cuantificación, a las muestras de medio de cultivo sobrenadante almacenadas se les dió destino final por medio de incineración.

## **6.8 Medición de TNF- $\alpha$ .**

La producción de TNF- $\alpha$  se puede asociar con la progresión de la OA al ser un mediador inflamatorio inducido por la acción de la IL-1 $\beta$  en las células. La concentración de TNF- $\alpha$  liberado al medio de cultivo fue cuantificada por medio de un ensayo de ELISA comercial (Human TNF- $\alpha$  ELISA Kit, R&D Systems) siguiendo

las recomendaciones del fabricante. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado en placa de 96 pozos. Se determinó la densidad óptica de cada pozo en el lector de placas multi-modal Cytation3 (BioTek® Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) a 450 nm. Se evaluó la producción de TNF- $\alpha$  en cada ensayo de co-cultivo (12 ensayos) y en cada grupo de experimentación (4 grupos) por duplicado. Este procedimiento se llevó a cabo en el Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular. Una vez concluidos los ensayos de cuantificación, a las muestras de medio de cultivo sobrenadante almacenadas se les dio destino final por medio de incineración.

## CAPITULO VII

### 7. RESULTADOS

#### 7.1 Características de los pacientes

Durante el protocolo se capturaron 20 pacientes, los cuales se sometieron a un reemplazo total de rodilla. (tabla 1)

La edad promedio fue de 70 años, predominando la gonartrosis derecha (11 pacientes) y gonartrosis izquierda (9 pacientes) la comorbilidad con más frecuencia fue la Hipertensión arterial 9 pacientes seguido de diabetes (2 pacientes) e hipotiroidismo (2 pacientes, las cirugías fueron realizadas en un periodo comprendido entre octubre 2018 y marzo 2020.

PACIENTES							
NO*	EDAD	REGISTRO	DIAGNOSTICO	COM	CIRUGIA	CONSENTIMIENTO	CIRUGIA
1	72	1665430-5	GONARTROSIS IZQUIERDA	HTA	RTR IZQUIERDA	24/09/2018	01/10/2018
2	80	1475339-6	GONARTROSIS DERECHA	HTA	RTR DERECHA	01/11/2018	01/11/2018
3	70	1252340-7	GONARTROSIS DERECHA	HTA + HPB	RTR DERECHA	14/11/2018	14/11/2018
4	69	1625162-7	GONARTROSIS DERECHA	HTA + DISLIPIDEMIA	RTR DERECHA	06/12/2018	06/12/2018
5	60	1634529-7	GONARTROSIS IZQUIERDA	DM2	RTR IZQUIERDA	18/12/2018	18/12/2018
6	72	1664365-6	GONARTROSIS IZQUIERDA	HTA	RTR IZQUIERDA	20/12/2018	20/12/2018
7	79	1222217-4	GONARTROSIS DERECHA	NEG	RTR DERECHA	02/04/2019	02/04/2019
8	58	1346055-9	GONARTROSIS DERECHA	HTA + HIPOTIROIDISMO	RTR DERECHA	25/04/2019	25/04/2019
9	74	1214948-5	GONARTROSIS DERECHA	DM2 + HTA	RTR DERECHA	14/05/2019	14/05/2019
10	61	1606938-2	GONARTROSIS DERECHA	HTA	RTR DERECHA	02/07/2019	02/07/2019
11	59	1718931-5	GONARTROSIS IZQUIERDA	NEG	RTR IZQUIERDA	18/06/2019	19/06/2019
12	73	1607866-9	GONARTROSIS IZQUIERDA	NEG	RTR IZQUIERDA	04/06/2019	04/06/2019
13	67	1741329-2	GONARTROSIS DERECHA	NEG	RTR DERECHA	18/08/2019	19/08/2019
14	82	1744011-2	GONARTROSIS DERECHA	HIPOTIROIDISMO	RTR DERECHA	26/08/2019	26/08/2019
15	72	1706620-0	GONARTROSIS IZQUIERDA	NEG	RTR IZQUIERDA	26/08/2019	27/08/2019
16	80	1386983-1	GONARTROSIS IZQUIERDA	NEG	RTR IZQUIERDA	09/09/2019	09/09/2019
17	73	1665430-5	GONARTROSIS DERECHA	HTA	RTR DERECHA	22/09/2019	23/09/2019
18	72	1735312-4	GONARTROSIS IZQUIERDA	NEG	RTR IZQUIERDA	30/09/2019	01/10/2019
20	64	1795753-5	GONARTROSIS IZQUIERDA	NEG	RTR IZQUIERDA	09/03/2020	10/03/2020

**Tabla1. Base de datos de los pacientes que se sometieron a un reemplazo total de rodilla.**



## 7.2 Estandarización de condiciones

### 7.2.1 Determinación de la Solubilidad de la reina

Por medio del método de matraz a partir de una concentración saturada de reina se determinó la solubilidad de la reina utilizando suero humano adicionado con gluconato de calcio al 10%.

Se realizaron pruebas de solubilidad siguiendo lo establecido por OCDE en el “método del matraz (flask method)”. Una solución saturada del fármaco se dejó en agitación constante durante 24 h a 25°C, 24 h de reposo a la misma temperatura y finalmente se centrifugaron a 3500 rpm a 25°C durante 5 min, para separar la solución del sólido no disuelto.

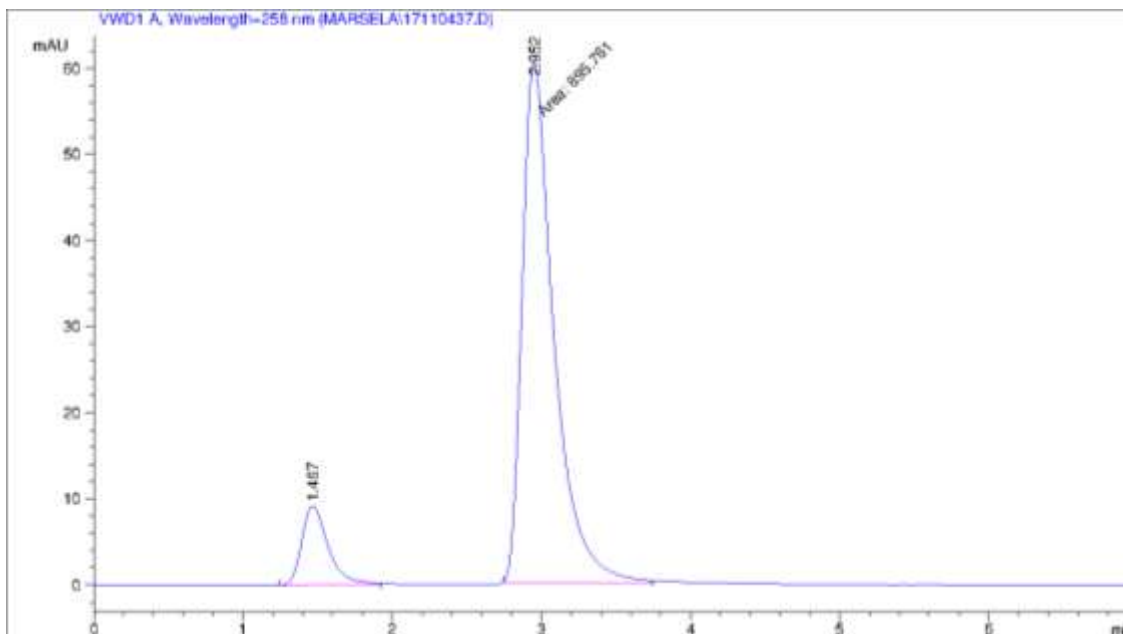
Las pruebas fueron realizadas en suero adicionado con gluconato de calcio al 10% en una relación de 0.15 mL por cada mL de suero.

El método desarrollado fue validado considerando las recomendaciones de la ICH. Los parámetros evaluados fueron linealidad, precisión, exactitud, límite de detección y límite de cuantificación.

Para la validación del método se preparó una solución concentrada de Rehina de 200 µg/mL en una mezcla de buffer de amonio/amoniaco 100 mM a pH 9 y metanol (60:40); a partir de esta se prepararon las soluciones de trabajo en un rango de 0.25 a 16 µg/mL en la misma mezcla de solventes.

Para la cuantificación de la reina se desarrolló un método de *HPLC* (cromatografía de alta resolución), empleando un cromatógrafo Water 3695 con detector de arreglo de diodos (Figura 3)

Finalmente se obtuvo una solubilidad promedio de 1.8 mg/ml

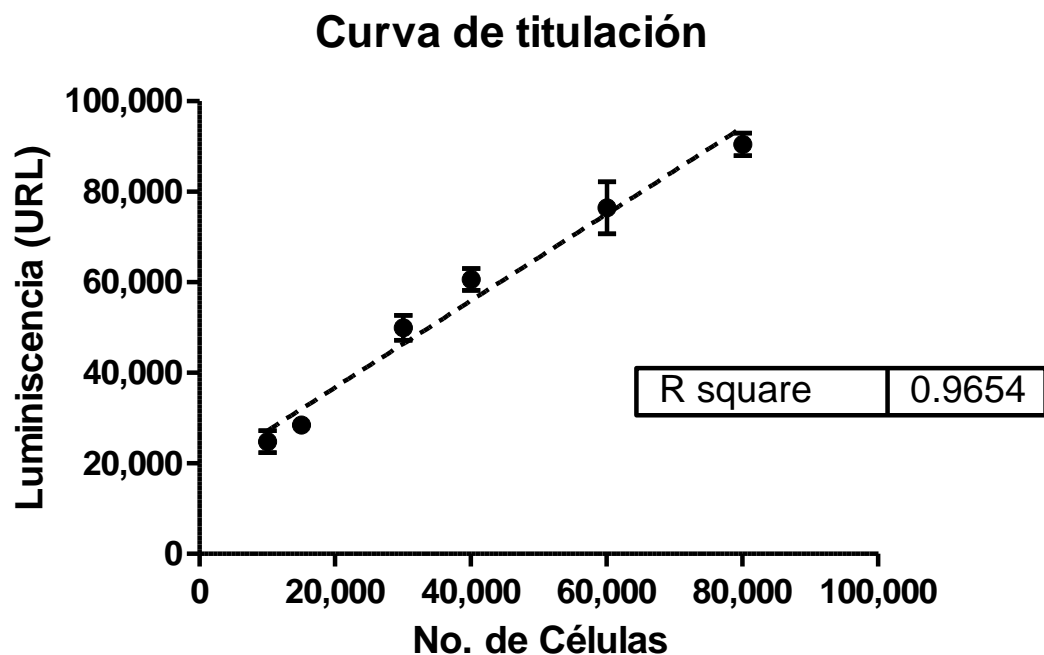


**Figura 3. Cromatograma representativo de la cuantificación de reina en una muestra de suero humano por medio de HPLC. El pico pequeño representa la señal que da el suero humano y el pico grande representa la señal que da la reina.**

### 7.2.2 Determinación de la viabilidad de condrocitos

Se determinó la cantidad óptima de células para los ensayos de experimentación mediante una curva de titulación. (Figura 4)

Se decidió la utilización de 50,000 células.



**Figura 4. Curva de Titulación para la determinación de la cantidad optima de condrocitos.**

#### 7.2.3 Determinación de la concentración de reina

Para determinar la cantidad optima de reina que se utilizó para los ensayos se tomaron como referencia un rango de concentraciones utilizadas en estudios previos que fueron reportados en la literatura (Tabla 3) y posteriormente mediante una curva dosis respuesta se valoró la viabilidad de los condrocitos sometidos a diversas concentraciones de reina (5, 10, 27, 50, 75 mg/L) Finalmente se optó por utilizar una concentración de 50 mg/L (Figura 5).

Referencia	Parámetro	Concentración	Dosis empleada	Muestra
1998 Nicolas	$C_{\max}$	3.1±1.3 mg/L	50 mg	Plasma (humano)
		4.9±1.8 mg/L	100 mg	
2003 Sánchez	$C_{\max}$	$10^{-5}$ M	100 mg	Plasma (humano)
2003 Sánchez	-	$10^{-6} - 10^{-5}$ M	-	Líquido sinovial (humano)
2005 Zhu	$C_{\max}$	2.79±1.02 $\mu\text{g/mL}$	50 mg/kg de extracto de rhubarb (12 mg de reina/g)	Plasma (humano)
2012 Sun	$C_{\max}$	4.07 mg/L	30 mg/kg	Plasma (ratas)
2016 Sagar	$C_{\max}$ (reina)	22.5 ng/mL	50 mg (diacereina)	Plasma (humano)

Tabla 3. Revisión de la literatura de estudios previos de los cuales se tomó como referencia las concentraciones de reina

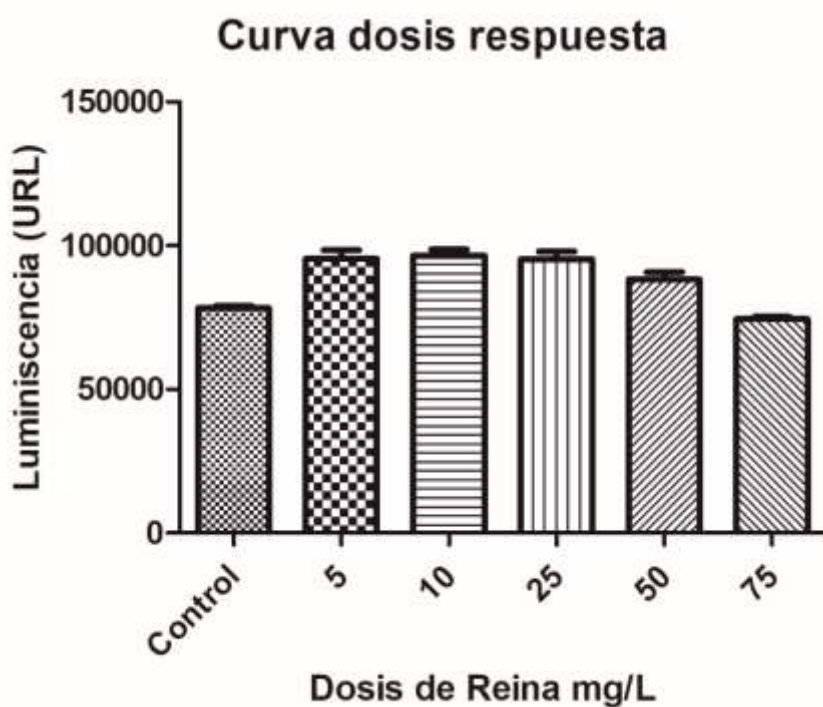


Figura 5. Curva dosis respuesta en la cual se evalúa la viabilidad de los condrocitos sometidos a diversas concentraciones de reina.

### **7.3 Método estadístico y determinación de la P.**

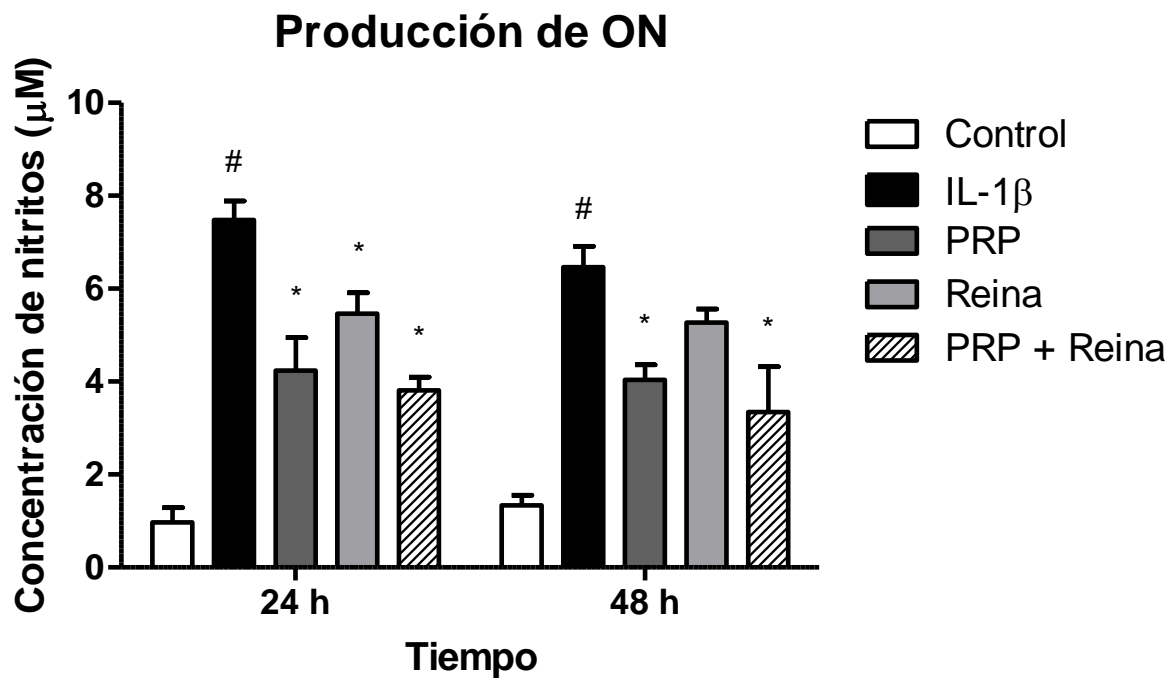
Prueba estadística: análisis de varianza (ANOVA) con prueba de comparación múltiple de Tukey.

(#) Diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) con respecto al grupo control a las 24 y 4 horas (IL-1 $\beta$ , PRP, Reina, PRP + reina vs control)

(\*) Diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a grupo IL-1 $\beta$  a las 24 (PRP, Reina, PRP+Reina vs IL-1 $\beta$ ) y 48 h (PRP, PRP+Reina vs IL-1 $\beta$ )

### **7.4 Determinación de la producción de óxido nítrico.**

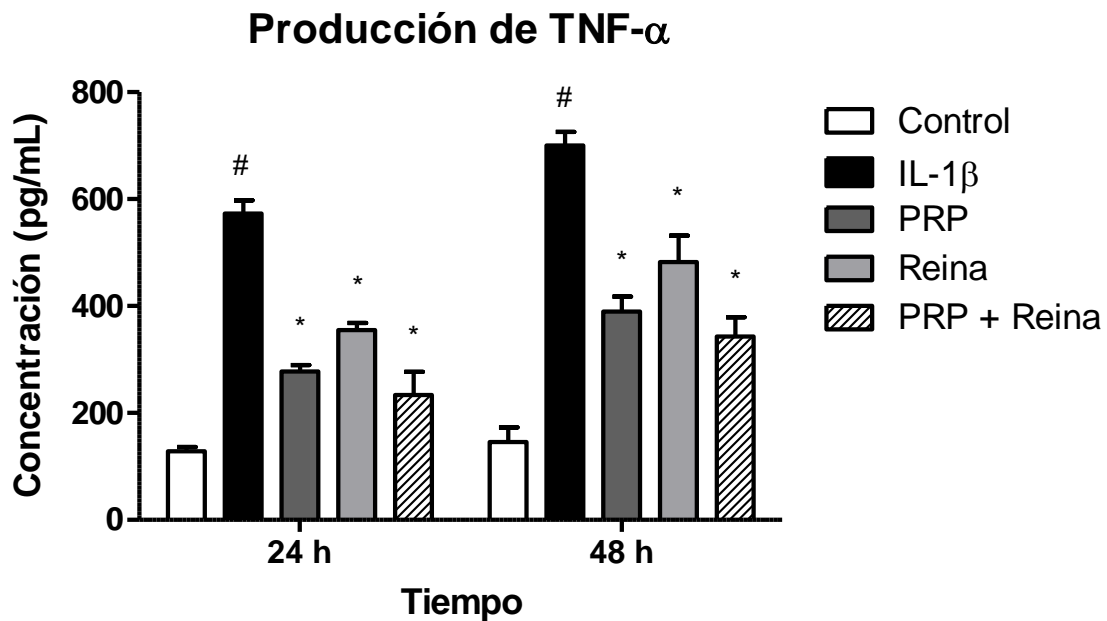
La Producción de Óxido nítrico medida por medio del reactivo de Griess a las 24 horas del cultivo tuvo una diferencia estadísticamente significativa en el grupo de IL-1 $\beta$  con respecto al control y una diferencia de esta respecto a los 3 grupos de tratamiento sin una diferencia significativa entre ellos. A las 48 horas se observó el mismo patrón sin una diferencia significativa. (Figura 6)



**Figura 6. Producción de Óxido Nítrico a las 24 y 48 horas.**

### **7.5 Determinación de la producción de TNF- $\alpha$ .**

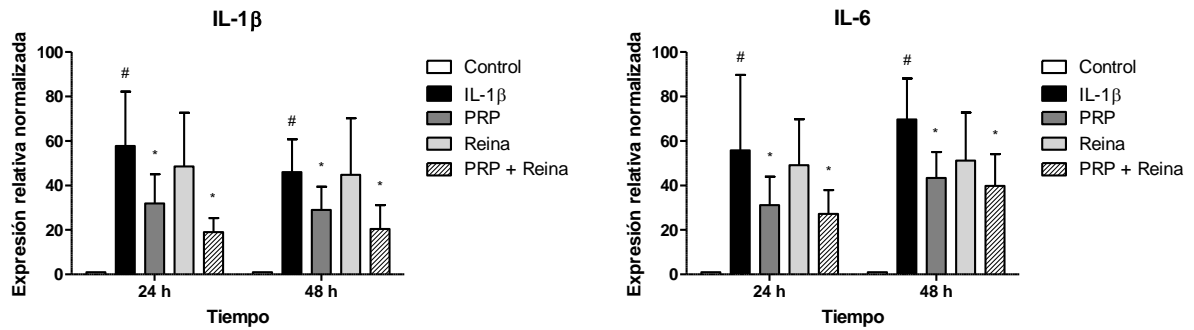
La producción de TNF- $\alpha$  medida por medio de ELISA a las 24 horas del cultivo tuvo una diferencia estadísticamente significativa en el grupo de II-B con respecto al control y una diferencia de esta respecto a los 3 grupos de tratamiento sin una diferencia significativa entre ellos. A las 48 horas se observó el mismo patrón sin una diferencia significativa. (Figura 7)



**Figura 7. Producción de TNF- $\alpha$  las 24 y 48 horas.**

### **7.6 Expresión Génica de citocinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ e IL-6.**

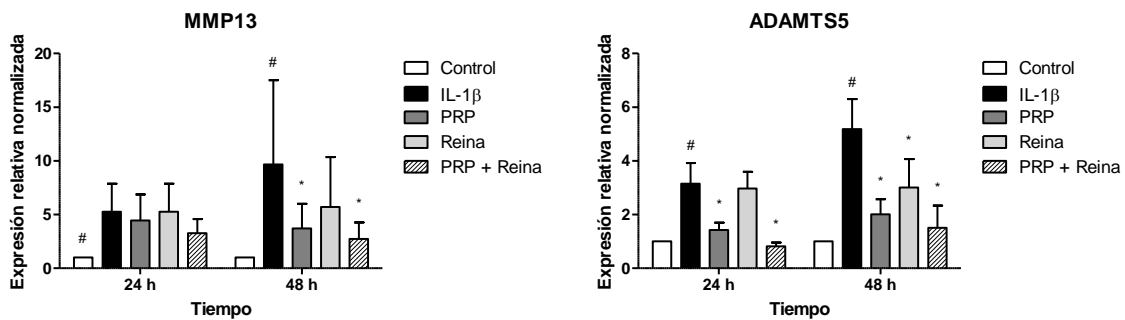
Mediante PCR se determinó la expresión génica dando un patrón similar a la producción del TNF- $\alpha$  y ON, en el que la concentración de PRP + reina no tuvo una respuesta estadísticamente significativa a la del resto de los tratamientos (Figura 8).



**Figura 8. Expresión génica de IL-1β e IL-6 a las 24 y 48 horas**

## 7.7 Expresión génica de enzimas involucradas en la degradación de matriz extracelular MMP13 y ADAMT S5.

Se valoró la expresión de MMP13 que codifica para la colagenasa tipo 2 y de ADAMT S5 que codifica para la agrecanasa, dando como un resultado estadístico similar al resto de los experimentos a las 24 y 48 horas. (Figura 9)

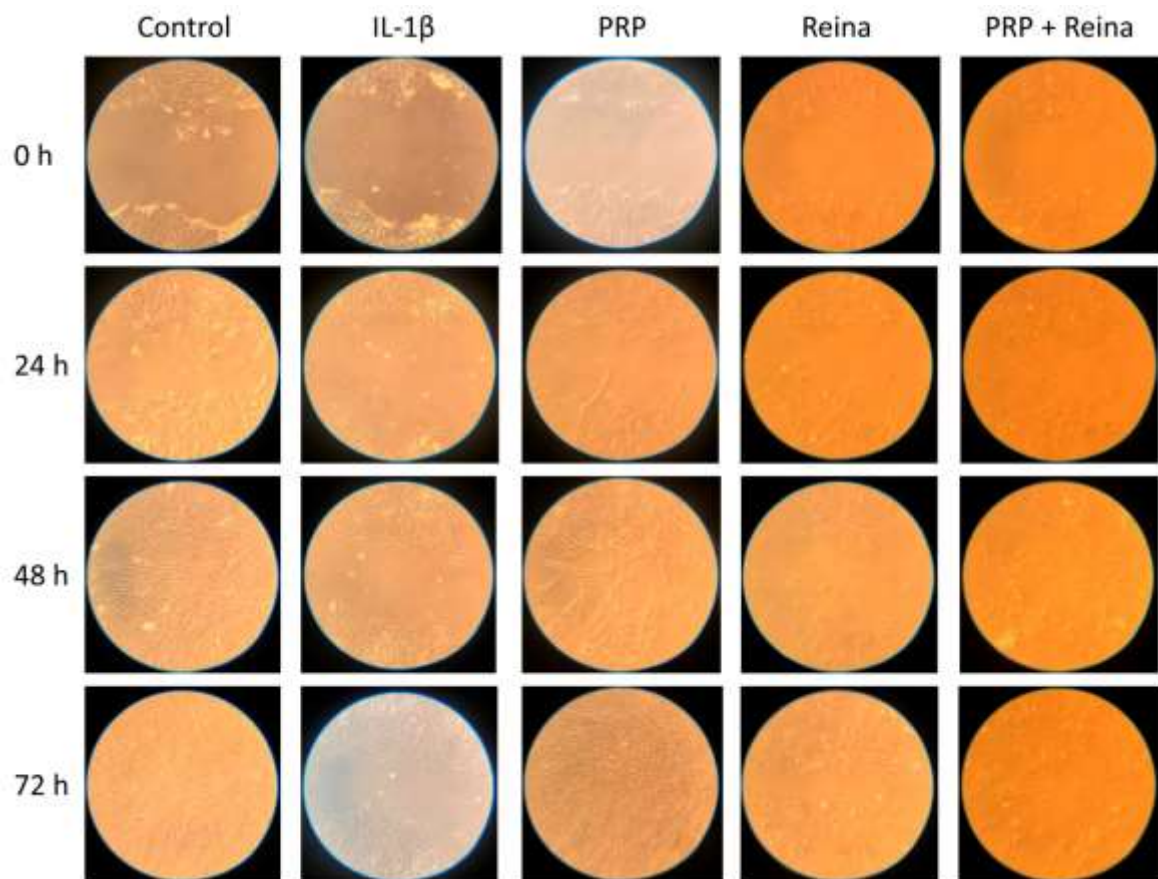


**Figura 9. Expresión génica de MMP13 y ADAMT S5 a las 24 y 48 horas**



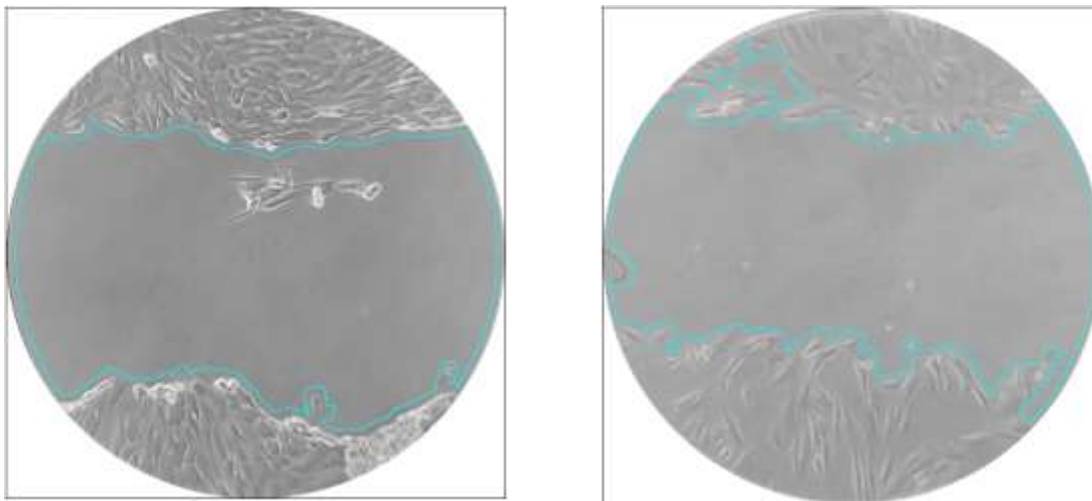
## 7.8 Ensayos de migración

Se realizó una herida de forma mecánica sobre la superficie del cultivo y se observó la migración celular para repoblar la herida a las 24, 48 y 72 horas. (Figura 10)



**Figura 10. Evaluación de la migración celular de un cultivo a las 0, 24, 48 y 72 horas.**

Posteriormente se transformaron las imágenes a una escala de grises y con el programa imageJ se estimó el espacio vacío obteniendo un porcentaje en cada medición. (figura 12)



**Figura 12. Determinación del porcentaje de área ausente de condrocitos mediante el programa ImageJ**

Se realizó una gráfica del promedio de los ensayos de migración de cada experimento donde se observa el descenso en el porcentaje de área debido a la migración de los condrocitos hacia la herida a través del tiempo, donde el grupo de PRP + reina tiene una migración parcial con respecto al grupo control y el grupo de PRP donde se repobló totalmente la herida a las 72 horas. (Figura 13)

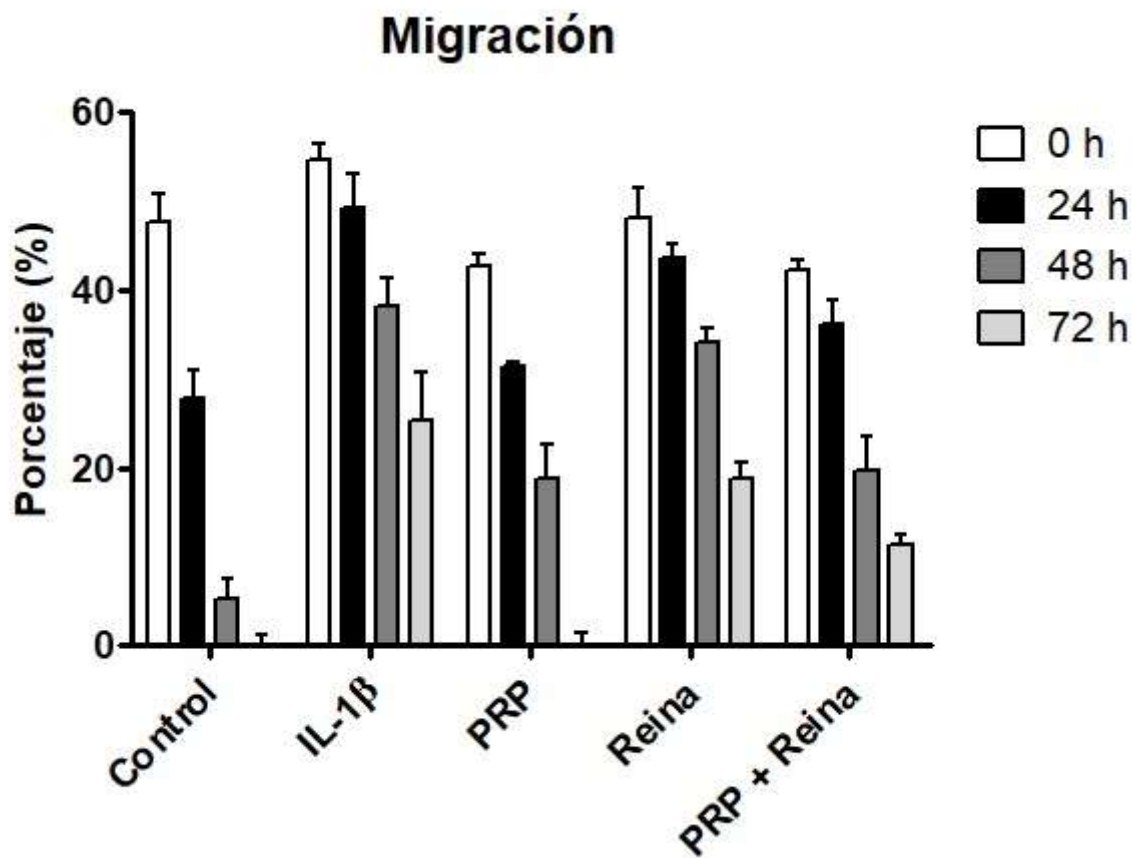


Figura 13. Grafica del porcentaje de área medida desprovista de condrocitos.

## CAPITULO VIII

### 8. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio sugieren que la terapia combinada de plasma rico en plaquetas y reina tiene un resultado parcial en el tratamiento de la osteoartrosis de rodilla modificando el ambiente inflamatorio y catabólico en la OA que consiste en la producción de ON, FNT- Expresión de enzimas que degradan la matriz extracelular y liberación de citocinas proinflamatorias, se propuso esta terapia debido al mecanismo de acción de cada una, las cuales pueden ser sinérgicas y potenciar su respuesta antiinflamatoria y condroprotectora.

Para ello se determinó la concentración utilizada de reina para los experimentos donde se tomaron como referencias los estudios publicados en la literatura en donde generalmente la concentración se encontraba en los 50 mg (93) (94) (95) (96) tomando como referencia esta misma, sin embargo, otros estudios de mostraron mayor efectividad a mayores dosis. (97)

Respecto a la producción de TNF- $\alpha$  se observó una respuesta similar al resto de los ensayos a las 24 y 48 horas con una disminución en la producción de este factor en la terapia combinada sin llegar a ser estadísticamente significativa.

Felisaz y cols demostraron que el adicionar reina a un cultivo de condrocitos adicionados con IL-1 $\beta$  favorece la respuesta condroprotectora aumentando factores antiinflamatorios como lo es el TNF- $\alpha$ . (98) Resultados similares los ha presentado Legendre y cols en sus estudios. (99)

Se determinó la expresión génica de las citocinas proinflamatorias IL-6 e IL-1 $\beta$  a las 24 y 48 horas donde se obtuvo una respuesta parcial en la terapia combinada sin llegar a ser estadísticamente significativa respecto al resto de los grupos de tratamiento, no existe como tal un estudio que evalúe la respuesta combinada en la osteoartritis sin embargo, Steinecker-Frohnwieser y cols. demostraron una respuesta favorable en la reducción de la expresión génica de citocinas proinflamatorias en la terapia de los condrocitos con reina de forma aislada. (100) Martin y cols. reportaron que el uso de reina también disminuye la expresión génica de enzimas que degradan la matriz extracelular. (101) Sanchez y cols tuvieron resultados muy similares con respecto al uso de reina onde produjo una disminución parcial del estado proinflamatorio en la OA (102) al igual que Legendre y cols. (103). Otros estudios han reportado resultados contradictorios donde concluyen que el uso de reina aumenta los mediadores inflamatorios en los sinoviocitos y que no afecta el perfil inflamatorio de los condrocitos.(10)

## **CAPITULO IX**

### **9. CONCLUSIÓN**

Bajo las condiciones en las que se realizó el estudio se concluyó lo siguiente:

El efecto condroprotector de la reina combinada PRP fue parcial, esto fue observado en los 4 ensayos experimentales donde no se observó una diferencia significativa con respecto al resto de los tratamientos.

El resultado obtenido no fue el esperado ya que la hipótesis era evidenciar que existía una respuesta condroprotectora y antiinflamatoria superior al tratamiento aislado con estos dos medicamentos.

Además, este estudio sirvió para comparar la respuesta condroprotectora y antiinflamatoria entre los 3 tratamientos donde se demostró que no existe una diferencia significativa entre ellos.


Se observó que el PRP presenta un mejor efecto condroprotector por si solo a pesar de no ser estadísticamente significativo, lo que es compatible con los estudios reportados en la literatura.


Por lo tanto, se concluye que este proyecto de investigación al ser el primero en su tipo realizado abre la puerta a realizar más estudios modificando ciertas variables con la finalidad de buscar nuevas terapias alternativas al tratamiento de la gonartrosis.

# CAPÍTULO X

## 10. ANEXOS

### 10.1 Carta de Aprobación por parte del Comité de Ética en Investigación

**UANL**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

  
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

**DR. MED. JOSE FELIX VILCHEZ CAVAZOS**  
Investigador principal  
Servicio de Ortopedia y Traumatología  
Presenta.-

Estimado Dr. Vilchez:

Le informo que nuestro Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario "Dr. Jose Eleuterio Gonzalez", ha **evaluado y aprobado** el protocolo de investigación titulado: **"Evaluación del efecto condroprotector del tratamiento con plasma rico en plaquetas y reína en condrocitos humanos"** participando además el Dr. Arturo Alejandro Wong Maldonado, Dr. Victor Manuel Peña Martínez, Dr. C. Mario Simental Mendia, Dr. C. Jorge Lara Arias y la Est. Diana Gabriela Wong Maldonado como Co-investigadores, el cual quedó registrado con la clave OR18-00004.

- Protocolo en extenso, versión 2.0 de fecha 20 de junio del 2018.
- Formato de Consentimiento Informado, versión 1.1 de fecha 3 de mayo del 2018.

Cada vez que el Protocolo sufra modificación, ésta deberá someterse nuevamente para solicitar su autorización.


Le reitero que es su obligación presentar a este Comité de Ética en Investigación un informe técnico parcial a más tardar el día en que se cumpla el año de emisión de este oficio, así como notificar la conclusión del estudio.

Será nuestra obligación realizar visitas de seguimiento a su sitio de investigación para que todo lo anterior esté debidamente consignado, en caso de no apegarse, este Comité tiene la autoridad de suspender temporal o definitivamente la investigación en curso, todo esto con la finalidad de resguardar el beneficio y seguridad de todo el personal y sujetos en investigación.

Atentamente.-  
"Alere Flammar Veritatis"  
Monterrey, Nuevo León, 06 de Julio del 2018




**SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN**



**COMITÉ DE ÉTICA**  
**COMITÉ DE INVESTIGACIÓN**

**DR. med. JOSE GERARDO GARZA LEAL**  
Presidente de Comité de Ética en Investigación

**Comité de Ética en Investigación**  
Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n, Col. Miras Centro, C.P. 64460, Monterrey, N.L. México  
Teléfonos: 818329 4050, Ext. 2570 a 2574. Correo Electrónico: investigacionclinica@meduanel.com



September 18, 2017

## 10.2 Formato de consentimiento informado

<b>Título del Estudio</b>	Evaluación del efecto condroprotector del tratamiento con plasma rico en plaquetas y reína en condrocitos humanos.
<b>Nombre del Investigador Principal</b>	Dr. Med. José Félix Vílchez Cavazos
<b>Servicio / Departamento</b>	Ortopedia y Traumatología Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”
<b>Teléfono de Contacto</b>	8113686438
<b>Persona de Contacto</b>	Dr. Arturo Wong Maldonado
<b>Versión de Documento</b>	1.1
<b>Fecha de Documento</b>	

Usted ha sido invitado(a) a participar en un estudio de investigación. Este documento contiene información importante acerca del propósito del estudio, lo que Usted hará si decide participar, y la forma en que nos gustaría utilizar su información personal y la de su salud.

Puede contener palabras que Usted no entienda. Por favor solicite a su médico o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara.

### ¿CUÁL ES EL PROPÓSITO DEL ESTUDIO?

El propósito de este estudio es conocer qué tan efectivos son los tratamientos con plasma rico en plaquetas y reína para disminuir la inflamación producida por el desgaste de la rodilla (osteoartrosis). Ya que se ha visto que los dos tratamientos han mostrado buenos resultados al tratar pacientes con desgaste de rodilla. Sin embargo, no se sabe con exactitud de qué forma actúan en los tejidos de la rodilla, y si son capaces de modificar la inflamación presente.

La investigación en la que Usted participará es importante porque con los resultados obtenidos se espera establecer cuál de los dos tratamientos es el que tiene mejores resultados para disminuir la inflamación causada por el desgaste de la rodilla.

### ¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL ESTUDIO Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?

La duración del estudio (experimentos) será de 1 semana. Se incluirán 9 sujetos en este estudio de participación voluntaria.

### ¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS QUE SE TOMARÁN EN CUENTA PARA MI PARTICIPACIÓN?

Los criterios de inclusión y de exclusión son los siguientes:

#### Criterios de Inclusión:

- Mayores de 18 años.
- Desgaste de rodilla grado avanzado.
- Género indistinto.



- Requerir cirugía para prótesis total de rodilla.
- Firma de consentimiento informado.

#### **Criterios de Exclusión**

- Infecciones.
- Muestra insuficiente

#### **¿CUÁL ES EL TRATAMIENTO DEL ESTUDIO?**

Los tratamientos consistirán en adicionar plasma rico en plaquetas y reína en un cultivo de cartílago y tejido sinovial en el laboratorio.

#### **¿CUÁLES SON LOS PROCEDIMIENTOS QUE SE ME REALIZARÁN?**

Si Usted decide participar en el estudio no se le realizará ningún procedimiento adicional al de su cirugía.

#### **¿QUÉ VA A HACER SI USTED DECIDE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?**

Si Usted decide participar únicamente nos estará otorgando su consentimiento para recuperar los tejidos de desecho que le sean retirados durante el procedimiento normal de su cirugía. Estos tejidos incluyen: cartílago y hueso, tejido sinovial y tejido adiposo (grasa). Los tejidos recuperados serán manipulados posteriormente en un laboratorio para realizar los experimentos que se tienen planeados.

#### **¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS?**

Ninguno.

#### **¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS PARA USTED O PARA OTROS?**

La participación en este estudio puede ayudar a los médicos científicos a comprender mejor la eficacia de los tratamientos con plasma rico en plaquetas y reína para poder determinar cuál es el que tiene mejor resultado. De esta forma se espera conocer de qué manera funcionan los dos tratamientos para poder saber el potencial beneficio para los pacientes que en un futuro se traten con alguno de los tratamientos evaluados.

#### **¿QUÉ OTROS PROCEDIMIENTOS O TRATAMIENTOS PODRÍAN ESTAR DISPONIBLES PARA USTED?**

No aplica.

#### **¿SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO LE GENERARÁ ALGÚN COSTO?**

No habrá costos para Usted por participar en este estudio.

#### **¿SE LE PROPORCIONARÁ ALGUNA COMPENSACIÓN ECONÓMICA PARA GASTOS DE TRANSPORTACIÓN?**

A Usted no se le proporcionará ninguna compensación para sus gastos de transportación.

### **¿RECIBIRÁ ALGÚN PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?**

Usted no recibirá ningún pago por la participación en este estudio.

### **¿SE ALMACENARÁN MUESTRAS DE SANGRE O TEJIDOS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES?**

Autorizar el almacenamiento de muestras de los tejidos recuperados de su cirugía para investigaciones relacionadas con su enfermedad no le generará ningún costo a Usted. Sus muestras serán utilizadas sólo para esta investigación y no se comercializarán ni serán usadas para crear líneas celulares inmortales. La investigación que se realice con ellas puede llevar al desarrollo de nuevos productos o medicamentos en un futuro. Usted no recibirá ninguna compensación ahora o en el futuro por el uso de estas muestras. Las muestras serán almacenadas en ultra congeladores del Laboratorio de Ingeniería Tisular del Banco de Hueso y Tejidos hasta que se hayan realizado todos los experimentos que se tienen planeados. Una vez terminado el proyecto, todas las muestras almacenadas serán desechadas y eliminadas por medio de incineración.

### **¿QUÉ DEBE HACER SI LE PASA ALGO COMO RESULTADO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?**

No aplica.

### **¿CUÁLES SON SUS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?**

Si decide participar en este estudio, Usted tiene derecho a ser tratado con respeto, incluyendo la decisión de continuar o no su participación en el estudio. Usted es libre de terminar su participación en este estudio en cualquier momento.

### **¿PUEDE TERMINAR SU PARTICIPACIÓN EN CUALQUIER MOMENTO DEL ESTUDIO?**

Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, su atención médica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho de algún otro modo.

Su participación también podrá ser suspendida o terminada por el médico del estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias:

- Que el estudio haya sido cancelado.
- Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.

Si Usted decide retirarse de este estudio, deberá realizar lo siguiente:

- Notificar a su médico tratante del estudio.

Si su participación en el estudio se da por terminada, por cualquier razón, por su seguridad, el médico continuará con seguimientos clínicos. Además, su información médica recabada hasta ese momento podrá ser utilizada para fines de la investigación.

### **¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE SUS DATOS PERSONALES Y LA INFORMACIÓN DE SU EXPEDIENTE CLÍNICO?**

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de Usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario, así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras locales (Secretaría de Salud SSA), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar su expediente clínico, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio u otra información personal.

En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parte o de todo su expediente clínico. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como sujeto en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted autoriza el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico le informará.

### **SI TIENE PREGUNTAS O INQUIETUDES ACERCA DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN, ¿A QUIÉN PUEDE LLAMAR?**

En caso de tener alguna pregunta relacionada a sus derechos como sujeto de investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario podrá contactar al **Dr. José Gerardo Garza Leal**, presidente del Comité de Ética en Investigación de nuestra Institución o al **Lic. Antonio Zapata de la Riva** en caso de tener dudas en relación a sus derechos como paciente.

**Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.**

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n

Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León México.

CP 66460

Teléfonos: (81) 83294000 ext. 2870 a 2874

Correo electrónico: [investigacionclinica@meduanl.com](mailto:investigacionclinica@meduanl.com)

**RESUMEN CONSENTIMIENTO**

**PARA LLENAR POR EL SUJETO DE INVESTIGACIÓN**

- ☐ Mi participación es completamente voluntaria.
- ☐ Confirmando que he leído y entendido este documento y la información proporcionada del estudio.
- ☐ Confirmando que se me ha explicado el estudio, que he tenido la oportunidad de hacer preguntas y que se me ha dado el tiempo suficiente para decidir sobre mi participación. Sé con quién debo comunicarme si tengo más preguntas.
- ☐ Entiendo que las secciones de mis anotaciones médicas serán revisadas cuando sea pertinente por el Comité de Ética en Investigación o cualquier otra autoridad regulatoria para proteger mi participación en el estudio.
- ☐ Acepto que mis datos personales se archiven bajo códigos que permitan mi identificación.
- ☐ Acepto que mis materiales biológicos (tejidos) recolectados puedan usarse para los fines que convengan a este estudio.
- ☐ Acepto que mi médico general sea informado de mi participación en este estudio.
- ☐ Acepto que la información acerca de este estudio y los resultados de cualquier examen o procedimiento pueden ser incluidos en mi expediente clínico.
- ☐ Confirmando que se me ha entregado una copia de este documento de consentimiento firmado.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Sujeto de Investigación

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

-----  
**PRIMER TESTIGO**

\_\_\_\_\_  
Nombre del Primer Testigo

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Dirección

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Relación con el Sujeto de Investigación

-----  
**SEGUNDO TESTIGO**

\_\_\_\_\_  
Nombre del Segundo Testigo

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Dirección

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Relación con el Sujeto de Investigación

**PERSONA QUE OBTIENE CONSENTIMIENTO**

He discutido lo anterior y he aclarado las dudas. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Nombre de la Persona que obtiene el Consentimiento

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

## XI. BIBLIOGRFÍA

1. Kennedy MI, Whitney K, Evans T, LaPrade RF. Platelet-Rich Plasma and Cartilage Repair. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2018;11(4):573–82.
2. Steinecker-Frohnwieser B, Weigl L, Kullich W, Lohberger B. The disease modifying osteoarthritis drug diacerein is able to antagonize pro inflammatory state of chondrocytes under mild mechanical stimuli. *Osteoarthr Cartil* [Internet]. 2014;22(7):1044–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2014.05.008>
3. Hussien MO, Alfaki SH, Enan KA, Gafar RA, Elhassan AM, Taha KM, et al. Prevalence of Antibodies to Simbu Serogroup Viruses in Cattle in Sudan. *Vet Med Int*. 2020;2020:1–4.
4. Felipe J, McCombie J. Why are some countries richer than others? A reassessment of Mankiw-Romer-Weil's test of the neoclassical growth model. *ERD Work Pap Ser*. 2002;81(19):1–27.
5. Maruotti N, Corrado A, Cantatore FP. Osteoblast role in osteoarthritis pathogenesis. *J Cell Physiol*. 2017;232(11):2957–63.
6. Hochberg MC, Altman RD, April KT, Benkhalti M, Guyatt G, McGowan J, et al. American College of Rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Arthritis Care Res*. 2012;64(4):465–74.
7. Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, Abramson S, Altman RD, Arden NK, et al. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis. Part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthr Cartil* [Internet]. 2010;18(4):476–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2010.01.013>
8. Kaur D, Kaur J, Kamal SS. Diacerein, its beneficial impact on chondrocytes and notable new clinical applications. *Brazilian J Pharm Sci*. 2018;54(4):1–9.
9. Melo-flori MPI. TGF- $\beta$  role in osteoarthritis. A review. *Open J Med* [Internet]. 2011;1–10. Available from: <http://myopenarchive.org/docs/alejandromelo00/123>
10. Álvarez-Soria MA, Herrero-Beaumont G, Sánchez-Pernaute O, Bellido M, Largo R. Diacerein has a weak effect on the catabolic pathway of human osteoarthritis synovial fibroblast - Comparison to its effects on osteoarthritic chondrocytes. *Rheumatology*. 2008;47(5):627–33.
11. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*. 1986;29(8):1039–

49.

12. Symmons D, Mathers C, Pflieger B. Global burden of osteoarthritis in the year 2000. *Who* [Internet]. 2000;2002(4):1–26. Available from: [http://cdrwww.who.int/entity/healthinfo/statistics/bod\\_osteoarthritis.pdf](http://cdrwww.who.int/entity/healthinfo/statistics/bod_osteoarthritis.pdf)
13. Larson B. Z-value Calculation. Spore News SGM Biotech Inc [Internet]. 2006;3(2):719–29. Available from: <http://www.sgmbiotech.com/docresults.php?documenttype=6&documentproduct=-1%0Ahttps://www.bioprocessonline.com/doc/z-value-calculation-0001>
14. Song J, Chang RW, Dunlop DD. Population impact of arthritis on disability in older adults. *Arthritis Care Res*. 2006;55(2):248–55.
15. Lawrence RC. Estimates of pre. *Arthritis Rheum*. 2008;58(1):26–35.
16. Christine M. McDonough, PhD, PT and Alan M. Jette, PhD P. The contribution of osteoarthritis to functional limitations and disability Christine. *Clin Geriatr Med*. 2012;26(3):387–99.
17. Chen D, Shen J, Zhao W, Wang T, Han L, Hamilton JL, et al. Osteoarthritis: Toward a comprehensive understanding of pathological mechanism. *Bone Res* [Internet]. 2017;5(September 2016). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/boneres.2016.44>
18. Neogi T, Zhang Y. Epidemiology of Osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2013;39(1):1–19.
19. Bortoluzzi A, Furini F, Scirè CA. Osteoarthritis and its management - Epidemiology, nutritional aspects and environmental factors. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2018;17(11):1097–104. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.06.002>
20. Pavia-mota , E Larios González, MG Briceño Cortés G. Osteoarthritis Management in Family Practice and Orthopedia. *Arch en Med Fam* [Internet]. 2005;7(3):93–8. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medfam/amf-2005/amf053e.pdf>
21. Peláez-Ballestas I, Sanin LH, Moreno-Montoya J, Alvarez-Nemegyei J, Burgos-Vargas R, Garza-Elizondo M, et al. Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *J Rheumatol*. 2011;38(SUPPL. 86):3–6.
22. Puig-Junoy J, Ruiz Zamora A. Socio-economic costs of osteoarthritis: A systematic review of cost-of-illness studies. *Semin Arthritis Rheum* [Internet]. 2015;44(5):531–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semarthrit.2014.10.012>
23. Xie F, Kovic B, Jin X, He X, Wang M, Silvestre C. Economic and Humanistic Burden of Osteoarthritis: A Systematic Review of Large Sample Studies. *Pharmacoeconomics*. 2016;34(11):1087–100.

24. Espinosa-Morales R, Alcántar-Ramírez J, Arce-Salinas CA, Chávez-Espina LM, Esquivel-Valerio J, Gutiérrez-Gómez JJ, et al. Reunión multidisciplinaria de expertos para el diagnóstico y tratamiento de la osteoartritis. Actualización basada en evidencias. *Med interna México*. 2018;34(3):443–76.
25. Borkhoff CM, Hawker GA, Kreder HJ, Glazier RH, Mahomed NN, Wright JG. The effect of patients' sex on physicians' recommendations for total knee arthroplasty. *Cmaj*. 2008;178(6):681–7.
26. Yang G, Sau C, Lai W, Cichon J, Li W. 蚊子网状进化HHS Public Access. 2015;344(6188):1173–8.
27. Nguyen USDT, Zhang Y, Zhu Y, Niu J, Zhang B, Felson DT. Increasing prevalence of knee pain and symptomatic knee osteoarthritis: Survey and cohort data. *Ann Intern Med*. 2011;155(11):725–32.
28. Borroni B, Benussi A. Recent advances in understanding frontotemporal degeneration [version 1; peer review: 2 approved]. *F1000Research*. 2019;8:1–11.
29. Felson DT. Risk factors for osteoarthritis: Understanding joint vulnerability. *Clin Orthop Relat Res*. 2004;(427 SUPPL.):16–21.
30. Allen K, Golightlya YM. Epidemiology of osteoarthritis: state of the evidence. *Curr Opin Rheumatol*. 2015;27(3):276–83.
31. Johnson VL, Hunter DJ. The epidemiology of osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* [Internet]. 2014;28(1):5–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.berh.2014.01.004>
32. Yang Y, You X, Cohen JD, Zhou H, He W, Li Z, et al. Sex Differences in Osteoarthritis Pathogenesis: A Comprehensive Study Based on Bioinformatics. *Med Sci Monit*. 2020;26:1–11.
33. O'Connor MI. Sex differences in osteoarthritis of the hip and knee. *J Am Acad Orthop Surg*. 2007;15(SUPPL. 1).
34. Srikanth VK, Fryer JL, Zhai G, Winzenberg TM, Hosmer D, Jones G. A meta-analysis of sex differences prevalence, incidence and severity of osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil*. 2005;13(9):769–81.
35. Hame SL, Alexander RA. Knee osteoarthritis in women. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2013;6(2):182–7.
36. Jiang L, Tian W, Wang Y, Rong J, Bao C, Liu Y, et al. Body mass index and susceptibility to knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Jt Bone Spine* [Internet]. 2012;79(3):291–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2011.05.015>
37. Blagojevic M, Jinks C, Jeffery A, Jordan KP. Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-



analysis. *Osteoarthr Cartil* [Internet]. 2010;18(1):24–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2009.08.010>

38. Keng A, Sayre EC, Guermazi A, Nicolaou S, Esdaile JM, Thorne A, et al. Association of body mass index with knee cartilage damage in an asymptomatic population-based study. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017;18(1):1–6.
39. Courties A, Gualillo O, Berenbaum F, Sellam J. Metabolic stress-induced joint inflammation and osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil* [Internet]. 2015;23(11):1955–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2015.05.016>
40. Gómez R, Conde J, Scotece M, Gómez-Reino JJ, Lago F, Gualillo O. What's new in our understanding of the role of adipokines in rheumatic diseases? *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2011;7(9):528–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2011.107>
41. Spector TD, MacGregor AJ. Risk factors for osteoarthritis: Genetics. *Osteoarthr Cartil*. 2004;12(SUPPL.):39–44.
42. Warner SC, Valdesa AM. Genetic association studies in osteoarthritis: Is it fairytale? *Curr Opin Rheumatol*. 2017;29(1):103–9.
43. Biscaldi E, Barra F, Evangelisti G, Ferrero S. Radiological assessment. *Endometrial Cancer Risk Factors, Manag Progn*. 2018;(3):113–44.
44. Ayhan E, Kesmezacar H, Akgun I. Intraarticular injections (corticosteroid, hyaluronic acid, platelet rich plasma) for the knee osteoarthritis. *World J Orthop*. 2014;5(3):351–61.
45. Mora JC, Przkora R, Cruz-Almeida Y. Knee osteoarthritis: Pathophysiology and current treatment modalities. *J Pain Res*. 2018;11:2189–96.
46. Hendrix, Abernethy, Sloane, Misuraca & M. 基因的改变 NIH Public Access. *Bone*. 2013;23(1):1–7.
47. Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, Van Den Berg WB, Bresnihan B. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(9):1263–7.
48. Robinson WH, Lepus CM, Wang Q, Raghu H, Mao R, Lindstrom TM, et al. *Nature Reviews Rheumatology*. 2016;12(10):580–92.
49. Richards MM, Maxwell JS, Weng L, Mathew G, Golzarian J. Inflammatories to Products of Regenerative Medicine. 2017;44(2):101–8.
50. Beverly M, Stamm G, Hamilton TW, Murray DW, Pandit HG. Upper tibial MRI vascular marks lost in early knee osteoarthritis. *J Orthop Surg Res*. 2018;13(1):1–7.
51. Bedson J, Croft PR. The discordance between clinical and radiographic knee

osteoarthritis: A systematic search and summary of the literature. *BMC Musculoskelet Disord*. 2008;9:1–11.

52. Zhang W, Doherty M, Leeb BF, Alekseeva L, Arden NK, Bijlsma JW, et al. EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of hand osteoarthritis : report of a task force of ESCISIT. 2009;8–17.
53. Zhang W, Doherty M, Peat G, Arden NK, Bresnihan B, Kirschner S, et al. EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis. 2010;483–9.
54. National T, Centre C. National clinical guideline for care and management in adults.
55. Abhishek A, Doherty M. Diagnosis and Clinical Presentation of Osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* [Internet]. 2013;39(1):45–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rdc.2012.10.007>
56. Duncan R, Peat G, Thomas E, Hay E, McCall I, Croft P. Symptoms and radiographic osteoarthritis: Not as discordant as they are made out to be? *Ann Rheum Dis*. 2007;66(1):86–91.
57. Schiphof D, de Klerk BM, Koes BW, Bierma-Zeinstra S. Good reliability, questionable validity of 25 different classification criteria of knee osteoarthritis: a systematic appraisal. *J Clin Epidemiol* [Internet]. 2008;61(12):1205-1215.e2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclinepi.2008.04.003>
58. Kinds MB, Welsing PMJ, Vignon EP, Bijlsma JWJ, Viergever MA, Marijnissen ACA, et al. A systematic review of the association between radiographic and clinical osteoarthritis of hip and knee. *Osteoarthr Cartil* [Internet]. 2011;19(7):768–78. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2011.01.015>
59. Spector TD, Hart DJ, Byrne J, Harris PA, Dacre JE, Doyle D V. Definition of osteoarthritis of the knee for epidemiological studies. *Ann Rheum Dis*. 1993;52(11):790–4.
60. Bauer DC, Hunter DJ, Abramson SB, Attur M, Corr M, Felson D, et al. Classification of osteoarthritis biomarkers: a proposed approach. *Osteoarthr Cartil*. 2006;14(8):723–7.
61. Roemer FW, Eckstein F, Guermazi A. Magnetic Resonance Imaging-Based Semiquantitative and Quantitative Assessment in Osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2009;35(3):521–55.
62. Roemer FW, Crema MD, Trattnig S, Guermazi A. Advances in imaging of osteoarthritis and cartilage. *Radiology*. 2011;260(2):332–54.
63. Guermazi A, Roemer FW, Haugen IK, Crema MD, Hayashi D. MRI-based semiquantitative scoring of joint pathology in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2013;9(4):236–51. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2012.223>

64. Majeed MH, Sherazi SAA, Bacon D, Bajwa ZH. Pharmacological Treatment of Pain in Osteoarthritis: A Descriptive Review. *Curr Rheumatol Rep*. 2018;20(12).
65. 2. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiol Behav*. 2019;176(3):139–48.
66. Bennell KL, Hunter DJ, Hinman RS. Management of osteoarthritis of the knee. *BMJ*. 2012;345(7868):1–8.
67. Messier SP, Mihalko SL, Legault C, Miller GD, Nicklas BJ, Devita P, et al. HHS Public Access. 2015;310(12):1263–73.
68. Bannuru RR, Osani MC, Vaysbrot EE, Arden NK, Bennell K, Bierma-Zeinstra SMA, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil* [Internet]. 2019;27(11):1578–89. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2019.06.011>
69. Yusuf E, Nelissen RG, Ioan-Facsinay A, Stojanovic-Susulic V, DeGroot J, Van Osch G, et al. Association between weight or body mass index and hand osteoarthritis: A systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(4):761–5.
70. Filardo G, Kon E, Longo UG, Madry H, Marchettini P, Marmotti A, et al. Non-surgical treatments for the management of early osteoarthritis. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc*. 2016;24(6):1775–85.
71. McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, Arden NK, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra SM, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil* [Internet]. 2014;22(3):363–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2014.01.003>
72. Roger Chou, M.D. Mark Helfand, M.D. Kim Peterson, M.S. Tracy Dana, M.L.S. Carol Roberts BS. Comparative Effectiveness and Safety of Analgesics for Osteoarthritis. *Lancet* [Internet]. 2006;365(4):475–81. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK42994/pdf/Bookshelf\\_NBK42994.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK42994/pdf/Bookshelf_NBK42994.pdf)  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.01.014>  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.semarthrit.2010.06.002>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK42994/>
73. Kon E, Filardo G, Drobic M, Madry H, Jelic M, van Dijk N, et al. Non-surgical management of early knee osteoarthritis. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc*. 2012;20(3):436–49.
74. Steinmeyer J, Konttinen YT. Oral treatment options for degenerative joint disease-presence and future. *Adv Drug Deliv Rev*. 2006;58(2):168–211.
75. Fibel KH. State-of-the-Art management of knee osteoarthritis. *World J Clin Cases*. 2015;3(2):89.

76. Conduah AH, Baker CL, Baker CL. Managing joint pain in osteoarthritis: Safety and efficacy of hylan G-F 20. *J Pain Res.* 2009;2:87–98.
77. Goldberg V. Intra-articular hyaluronans: the treatment of knee pain in osteoarthritis. *J Pain Res.* 2010;51.
78. Goldberg VM, Buckwalter JA. Hyaluronans in the treatment of osteoarthritis of the knee: Evidence for disease-modifying activity. *Osteoarthr Cartil.* 2005;13(3):216–24.
79. Bellamy N, Campbell J, Welch V, Gee TL, Bourne R, Wells GA. Viscosupplementation for the treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;2006(2).
80. Hamburger MI, Lakhanpal S, Mooar PA, Oster D. Intra-articular hyaluronans: A review of product-specific safety profiles. *Semin Arthritis Rheum.* 2003;32(5):296–309.
81. Almezgagi M, Zhang Y, Hezam K, Shamsan E, Gamah M, Al-shaebi F, et al. Diacerein: Recent insight into pharmacological activities and molecular pathways. *Biomed Pharmacother [Internet].* 2020;131(May):110594. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110594>
82. Mohammed SA, Elhabak MA, Eldardiri M. Pharmacokinetics and bioequivalence study of rhein as the main metabolite of diacerein. *Arab J Chem [Internet].* 2020;13(2):3849–55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.02.004>
83. Martel Pelletier J, Pelletier JP. Effects of diacerein at the molecular level in the osteoarthritis disease process. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2010;2(2):95–104.
84. Pavelka K, Bruyère O, Cooper C, Kanis JA, Leeb BF, Maheu E, et al. Diacerein: Benefits, Risks and Place in the Management of Osteoarthritis. An Opinion-Based Report from the ESCEO. *Drugs and Aging.* 2016;33(2):75–85.
85. Davies PSE, Graham SM, MacFarlane RJ, Leonidou A, Mantalaris A, Tsiridis E. Disease-modifying osteoarthritis drugs: In vitro and in vivo data on the development of DMOADs under investigation. *Expert Opin Investig Drugs.* 2013;22(4):423–41.
86. Tamura T, Kosaka N, Ishiwa J, Sato T, Nagase H, Ito A. Rhein, an active metabolite of diacerein, down-regulates the production of pro-matrix metalloproteinases-1, -3, -9 and -13 and up-regulates the production of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in cultured rabbit articular chondrocytes. *Osteoarthr Cartil.* 2001;9(3):257–63.
87. Zhou YX, Xia W, Yue W, Peng C, Rahman K, Zhang H. Rhein: A Review of Pharmacological Activities. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2015;2015.

88. Kon E, Buda R, Filardo G, Di Martino A, Timoncini A, Cenacchi A, et al. Platelet-rich plasma: Intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2010;18(4):472–9.
89. Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-rich plasma: New performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):1–36.
90. Xie X, Zhang C, Tuan RS. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2014;16(1):1–15. Available from: Arthritis Research & Therapy
91. Wu PIK, Diaz R, Borg-Stein J. Platelet-Rich Plasma. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2016;27(4):825–53.
92. Baloch N, Hasan O, Baig Z, Abdullah UEH, Atif M, Ohuchi H. Use of intraarticular injections of platelet-rich plasma in the treatment of knee osteoarthritis: A review article. *Orthop Rev (Pavia).* 2019;11(3):161–6.
93. Nicolas P, Tod M, Padoin C, Petitjean O. of Diacerein. 1998;35(5):347–59.
94. Zhu W, Wang XM, Zhang L, Li XY, Wang BX. Pharmacokinetic of Rhein in healthy male volunteers following oral and retention enema administration of rhubarb extract: A single dose study. *Am J Chin Med.* 2005;33(6):839–50.
95. Brahmachari B, Chatterjee S, Ghosh A. Efficacy and safety of diacerein in early knee osteoarthritis: A randomized placebo-controlled trial. *Clin Rheumatol.* 2009;28(10):1193–8.
96. Nandi U, Bhaumik U, Chakrabarty US, Das A, Pal TK. Bioequivalence study of two tablet formulations containing rimonabant 20 mg in healthy Indian subjects. *Arzneimittel-Forschung/Drug Res.* 2011;61(2):80–4.
97. Pelletier J, Yaron M, Haraoui B, Cohen P, Nahir MA, Choquette D, et al. Efficacy and safety of diacerein in osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum.* 2000;43(10):2339–48.
98. Felisaz N, Boumediene K, Ghayor C, Herrouin JF, Bogdanowicz P, Galera P, et al. Stimulating effect of diacerein on TGF- $\beta$ 1 and  $\beta$ 2 expression in articular chondrocytes cultured with and without interleukin-1. *Osteoarthr Cartil.* 1999;7(3):255–64.
99. Legendre F, Bogdanowicz P, Martin G, Domagala F, Leclercq S, Pujol JP, et al. Rhein, a diacerhein-derived metabolite, modulates the expression of matrix degrading enzymes and the cell proliferation of articular chondrocytes by inhibiting ERK and JNK-AP-1 dependent pathways. *Clin Exp Rheumatol.* 2007;25(4):546–55.
100. Steinecker-Frohnwieser B, Kaltenegger H, Weigl L, Mann A, Kullich W, Leithner A, et al. Pharmacological treatment with diacerein combined with mechanical stimulation affects the expression of growth factors in human

chondrocytes. *Biochem Biophys Reports* [Internet]. 2017;11(July):154–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.06.006>

101. Zaremba LS, Smoleński WH. Optimal portfolio choice under a liability constraint. *Ann Oper Res*. 2000;97(1–4):131–41.
102. Sanchez C, Mathy-Hartert M, Deberg MA, Ficheux H, Reginster JYL, Henrotin YE. Effects of rhein on human articular chondrocytes in alginate beads. *Biochem Pharmacol*. 2003;65(3):377–88.
103. Legendre F, Heuze A, Boukerrouche K, Leclercq S, Boumediene K, Galera P, et al. Rhein, the metabolite of diacerhein, reduces the proliferation of osteoarthritic chondrocytes and synoviocytes without inducing apoptosis. *Scand J Rheumatol*. 2009;38(2):104–11.

## **CAPÍTULO XI**

### **11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO**

Candidato para el grado de:

**Especialista en Ortopedia y Traumatología**

**Tesis:**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO CONDROPROTETOR DEL  
TRATAMIENTO CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y REÍNA EN  
CONDROCITOS HUMANOS”**

**Campo de estudio:**

Ciencias de la Salud

**Biografía:**

**Personal:** Nacido el 14 de septiembre de 1991, en Cd. Mante, Tamaulipas. Hijo de Arturo Wong Rocha y Gloria Maldonado Ávila.

**Educación:** Egresado de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. con grado de Médico Cirujano y Partero en 2015.

28%

INDICE DE SIMILITUD

27%

FUENTES DE INTERNET

15%

PUBLICACIONES

19%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	link.springer.com Fuente de Internet	1%
2	www.elsevier.es Fuente de Internet	1%
3	www.scielo.org.mx Fuente de Internet	1%
4	ircmj.com Fuente de Internet	1%
5	livrepository.liverpool.ac.uk Fuente de Internet	1%
6	arthritis-research.biomedcentral.com Fuente de Internet	1%
7	www.researchsquare.com Fuente de Internet	1%
8	epdf.pub Fuente de Internet	<1%
9	bmcmusculoskeletdisord.biomedcentral.com Fuente de Internet	<1%





UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez  
Subdirector de Estudios de Posgrado  
Facultad de Medicina, UANL.  
Presente.-

Por medio de la presente me permito enviarle un cordial saludo, así mismo hacer de su conocimiento que el Dr. Arturo Alejandro Wong Maldonado, residente del cuarto grado de esta Especialidad realizó su tesis de manera satisfactoria bajo la dirección del Dr. med. Carlos Alberto Acosta Olivo, Coordinador de Investigación del Servicio.

Así mismo se hace constar que obtuvo el 28% de similitud en la "Plataforma Turnitin".

Sin otro particular por el momento, quedo a sus distinguidas órdenes.

Atentamente  
"Alere Flammam Veritatis"  
Monterrey, N.L., a 17 de diciembre del 2020

Dr. med. Santiago de la Garza Castro  
Coordinador de Posgrado del Servicio



SERVICIO DE ORTOPEDIA  
Y TRAUMATOLOGÍA

SERVICIO DE ORTOPEDIA Y TRAUMATOLOGÍA

Av. Francisco I. Madero Pte.s/n. y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro,  
C.P. 64460 Monterrey, N.L. Mexico Apartado Postal 1-4469 Tels.: 8347-6698 y 8333-5456  
E-mail: serviciotraumatologiahu@gmail.com